

**UJI PENINGKATAN KADAR PROTEIN TAPE KETAN
(*Oryza glutinosa auct*) DENGAN PENAMBAHAN
SARI BUAH NENAS (*Ananas comosus*)
MENGUNAKAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI**



Oleh

SULASTRI

NIM. 10617003656

**FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU
PEKANBARU
1432 H /2010 M**

**UJI PENINGKATAN KADAR PROTEIN TAPE KETAN
(*Oryza glutinosa auct*) DENGAN PENAMBAHAN
SARI BUAH NENAS (*Ananas comosus*)
MENGUNAKAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI**

Skripsi

Diajukan untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Pendidikan
(S.Pd.)



Oleh

SULASTRI

NIM. 10617003656

**JURUSAN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU
PEKANBARU
1432 H /2010 M**

ABSTRAK

SULASTRI (2010) : Uji Peningkatan Kadar Protein Tape Ketan (*Oryza glutinosa auct*) dengan Penambahan Sari Buah Nenas (*Ananas comosus*) Menggunakan Metode Spektrofotometri.

Tape ketan merupakan produk makanan fermentasi tradisional berbahan baku beras ketan. Proses pembuatannya sama dengan pembuatan tape singkong. Tape ketan putih memiliki kandungan protein 3,0 gram/100 gram bahan. Kadar protein pada tape ketan masih tergolong rendah, sedangkan protein sendiri merupakan zat makanan untuk pertumbuhan tubuh. Menurut Angka Kecukupan Gizi (AKG), anak usia 7 – 9 tahun saja membutuhkan protein sebanyak 37 gram per harinya. Oleh karena itu kadar protein pada berbagai pangan tambahan perlu ditingkatkan, salah satunya pada tape ketan, mengingat makanan ini dapat dimakan dan digemari oleh berbagai kalangan. Salah satu cara peningkatan protein pada tape ketan ini yaitu dengan menambahkan sari buah nenas pada proses pembuatan tape. Pada proses pembuatan tape ketan ditambahkan sari buah nenas pada ketan masing-masing sebanyak 25 ml dan 50 ml per 0,5 kg ketan, sedangkan satu perlakuan tidak ditambahkan sari buah nenas sebagai kontrol. Beras ketan yang telah difermentasi selama ± 2 malam, lalu diuji kadar proteinnya menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 570 nm. Pada penelitian ini kadar protein tape ketan kontrol (tanpa penambahan sari nenas) didapatkan 1,275%, kadar protein meningkat menjadi 4,657% dengan penambahan sari buah nenas sebanyak 50 mL, sedangkan pada penambahan sari buah nenas 25 mL kadar protein juga meningkat menjadi 3,228%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein cenderung semakin meningkat seiring dengan penambahan volume sari buah nenas, yang disebabkan oleh semakin meningkatnya kandungan enzim bromalin dalam bahan yang berfungsi sebagai biokatalisator yang akan mempercepat reaksi pemecahan protein menjadi asam amino. Jadi tape ketan dengan penambahan sari buah nenas dapat dijadikan makanan samping yang lebih bermanfaat selain rasanya yang enak, karena berprotein lebih tinggi sehingga dapat menambah kebutuhan tubuh akan protein sehari-hari.

Kata kunci : Tape ketan, Protein, Enzim bromalin.

ملخص

سولستري (٢٠١٠) : اختبار ترقية مستوى البروتين خمير أرزي بزيادة جوه ثمره الأناناس

إن الخمير الأرزى من إنتاج الاختمار التقليدي كانت مادة خامه الخمير الأرزى. عملية صناعة تساوي صناعة الخمار الكاسافا. للخمير الأرزى الأبيض محتويات البروتين ٣,٠ الغرام ١٠٠٠ الغرام ماديا. مستوى البروتين في الخمير الأرزى لايزال منخفضا, بينما البروتين من مادة الأطعمة لنمو الأجسام. طبقا لأرقام كفاية المادة, للطفل ذي عمر-٩٧ سنوات يحتاجون البروتين بقدر ٧٣ الغرام في كل يوم. لذلك مستوى البروتين في الأطعمة الإضافية ينبغي التحسين, أحدها في الخمير الأرزى. ذكرنا هذا الطعام يمكن أكله وتحبه أكثر من الجماعات. إحدى الطرق لترقية البروتين في الخمير الأرزى بزيادة جوهر الأناناس في عملية صناعة الخمير. في عملية صناعة الخمير الأرزى يزداد فيه جوهر الأناناس كلها بقدر ٥٢ الملليغرام و ٠,٥ الملليغرام في كل ٥,٠ كيلو غرام من الخمير, وواحد منها لايزاد فيه جوهر ثمرة الأناناس للسيطرة. أرز الخمير المتخمّر. الخمير الأرزى المتخمّر طول ليلتين, ثم اختبرت مستوى البروتين باستخدام سفيكتوتوميتير المرئية في طول الموج ٠٧٥ ن م. في هذا البحث يعرف أن مستوى البروتين من حاصل التخمير للخمير الأرزى الذي يزداد فيه جوهر الأناناس بقدر ٠,٥ م ل (P_2) بقدر ٤,٧٥٦ في المائة, في زيادة جوهر الأناناس ٥٢ م ل (P_1) بقدر ٢٢,٣ في المائة. مستوى البروتين في السيطرة بقدر ٥٧٢,١ في المائة. هذا يدل على أن مستوى البروتين ميل إلى الترقية مع زيادة الحجم لجوهر الأناناس, مسبب من ترقية محتوى إنزيم برومالين في المادة التي لبيوكاتاليساتور ما يسرع عمل تكسير البروين ليكون حمض أمينو. إذن الخمير الأرزى مع زيادة جوهر الأناناس يمكن أن يكون طعاما إضافيا حيث له مادة مرتفعة مع طعمها اللذيذة, كذلك لها البروتين المرتفع حتى يزيد مطلوب الأجسام للبروتين اليومي.

الكلمة الدليلية: الخمير الأرزى, البروتين, إنزيم برومالين.

ABSTRACT

Sulastri (2010): The Level of Protein Test of Fermented Glutinous Rice (*Oryza glutinosa auct*) by Adding the Essence of Pineapple (*Ananas comosus*) Using Spektrofotometry Method.

Fermented glutinous rice is traditional fermentation food product which the material is fermented glutinous raw material. The process of creating is similar with creating fermented cassava. White fermented glutinous rice has the contents of protein 3,0 gram/100 gram of material. The level of protein in fermented glutinous rice is still low, while the protein itself is food material for body growth. According to nutrient sufficiency numeral, the child with 7-9 year old needs the protein as much as 37 gram each day. So that the level of protein in several foods is needed to be improved, one of them is fermented glutinous rice, because this is ate and love by many groups. One of the ways to increase the protein in fermented glutinous rice is by adding pineapple essence in the process of creating fermented cassava. In the process of making fermented glutinous by adding the essence of pineapple in fermented glutinous about 25 ml and 50 ml per 0,5 kg of fermented glutinous, while one is not added by pineapple essence as control. The fermented of glutinous during 2 nights, then tested its level of protein by using spektrofotometer visible in wave length 570 nm. In this research know that the level of from the result of fermentation of glutinous rice which is added the essence of pineapple as much as 50 mL (P₂) about 4,657%, in adding the essence of pineapple 25 mL (P₁) about 3,228%. The level of protein in control is about 1,275%. This show that the level of protein is disposed improve with the volume of pineapple essence additional, this caused by increasing bromalin enzyme contents in the material functions as biokatalisator which will fasten the reaction of breaking the protein to become sour. So fermented glutinous with adding the essence of pineapple can be additional food which has higher nutrient with it is delicious, but also has high protein until it add the need of body every day.

Keywords: Fermented glutinous rice, Protein, Enzyme bromalin.

DAFTAR ISI

PERSETUJUAN	i
PENGESAHAN.....	ii
PENGHARGAAN.....	iii
PERSEMBAHAN	iv
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang.....	1
B. Penegasan Istilah	4
C. Batasan Masalah	5
D. Rumusan Masalah.....	6
E. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Protein	7
B. Enzim	14
C. Fermentasi	18
D. Tape Ketan	21
E. Nenas (<i>Ananas comosus</i>)	22
F. Spektrofotometer.....	24

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Alat dan Bahan	26
C. Cara Kerja	27
D. Teknik Pengumpulan Data.....	31
E. Teknik Analisa Data.....	33

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Metode Biuret.....	39
B. Panjang Gelombang Optimum.....	42
C. Larutan Kurva Standar	44
D. Analisis Kadar Protein	46

BAB V PENUTUP

A.	Kesimpulan.....	56
B.	Saran.....	56

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ketan putih merupakan komoditas hasil pertanian yang banyak ditanam di Indonesia dan sumber karbohidrat yang penting setelah beras dengan kandungan karbohidrat adalah 79,4%¹. Namun pada kenyataannya ketan putih kurang begitu dimanfaatkan, untuk itu perlu adanya pemanfaatan ketan putih agar menjadi makanan yang memiliki nilai gizi yang cukup tinggi.

Makanan tradisional asli Indonesia banyak diantaranya merupakan hasil fermentasi mikroba, baik oleh bakteri, ragi, maupun kapang, atau oleh enzim yang dikandungnya sendiri, misalnya tempe, tauco, oncom, tape, dan sebagainya². Semua bahan pangan yang mengandung karbohidrat dapat diolah menjadi makanan khas yang disebut tape. Tape adalah salah satu jenis makanan hasil fermentasi yang mengandung cukup gizi. Produk-produk fermentasi dipercaya mengandung jenis-jenis peptida yang mempunyai sifat fisiologis yang bermanfaat. Penelitian tentang hal ini di Korea menunjukkan bahwa produk-produk fermentasi mengandung beberapa jenis peptida yang berfungsi menekan sel tumor, sebagai antihipertensi, serta bersifat hipokolesterol-lemak³.

¹Kam Nio Oey, *Daftar Analisis Bahan Makanan*, Balai penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1992, h. 10.

² Winarno F.G., dkk., *Biofermentasi dan biosintesa protein*, Angkasa, Bandung, 1993, h. 9.

³ Widiyastuti netty, dkk., *Makanan hasil fermentasi*, BPPT PRESS, Jakarta, 2007, h. 13.

Tape memiliki rasa manis dan aroma yang khas dan kuat yang sangat disukai oleh banyak orang, salah satu diantaranya adalah tape ketan. Tape ketan merupakan produk makanan fermentasi tradisional berbahan baku beras ketan. Proses pembuatannya sama dengan pembuatan tape singkong.

Tape ketan putih memiliki kandungan protein 3,0 gram/100 gram bahan. Kadar protein pada tape ketan masih tergolong rendah, sedangkan protein sendiri merupakan zat makanan untuk pemertahanan tubuh. Menurut angka kebutuhan gizi yang dianjurkan (AKG) untuk energi dan protein sesuai golongan umur dan jenis kelamin per hari adalah sebagai berikut :

TABEL I.1
ANGKA KEBUTUHAN GIZI RATA-RATA (ENERGI DAN PROTEIN) YANG
DIANJURKAN (PER ORANG PER HARI)⁴

Gol. Umur	BB (kg)	TB (cm)	Energi (kkal)	Protein (g)
0-16 bl	5,5	60	560	12
7-12 bl	8,5	71	800	15
1-3 th	12	90	1250	23
4-6 th	18	110	1750	32
7-9 th	24	120	1900	37
Pria				
10-12 th	30	135	2000	45

⁴ Farida Baliwati Yayuk, dkk., *Pengantar Pangan dan Gizi*, Penebar Swadaya, Jakarta, 2006, h. 67.

13-15 th	45	150	2400	64
16-19 th	56	160	2500	66
20-45 th	62	165	2800	55
46-59 th	62	165	2500	55
>60 th	62	165	2200	55
Wanita				
10-12 th	35	140	1900	54
13-15 th	46	153	2100	62
16-19 th	50	154	2000	51
20-45 th	54	156	2200	48
46-59 th	54	156	2100	48
>60 th	54	156	1850	48
Hamil			+285	+12
Menyusui				
0-6 bl			+700	+16

Berdasarkan tabel I.1, maka kadar protein pada berbagai pangan tambahan perlu ditingkatkan, salah satunya pada tape ketan, mengingat makanan ini dapat dimakan dan digemari oleh berbagai kalangan. Salah satu cara peningkatan protein pada tape ketan ini yaitu dengan menambahkan sari buah nenas pada pembuatan tape. Buah nenas mengandung enzim bromelin. Enzim ini merupakan salah satu enzim protease yang dapat menghidrolisa protein, oleh karena itu dapat meningkatkan kadar

protein. Walaupun hampir semua buah-buahan mengandung enzim protease tetapi kadar enzim ini dalam buah nenas lebih tinggi dibandingkan buah lain. Senyawa ini juga dapat digunakan sebagai pengempuk daging sebagaimana papain pada tanaman pepaya⁵. Bromelin merupakan glukoprotein dan tergolong kelompok enzim protease sulfhidril.

Enzim bromelin ini dapat diisolasi dari buah, kulit, bonggol, tangkai dan daun yaitu masing-masing 0,8%; 0,75%; 0,6%; 0,1-0,6% dan sedikit pada daun yang aktif pada pH 6,5 atau dalam kisaran pH 6-8. Suhu optimum enzim bromelin adalah 50°C, tetapi pada kisaran 30-60°C enzim masih bisa bekerja dengan baik.⁶ Bromelin merupakan enzim proteolitik yang dapat menghidrolisa protein menghasilkan protease, pepton, peptida, dan asam amino yang larut dalam air⁷. Dengan demikian proses fermentasi ketan yang selama ini tidak ditambah sari buah nenas, maka dapat ditambahkan sari buah nenas selain berguna untuk meningkatkan nilai gizi tape juga untuk meningkatkan variasi makanan tradisional. Lebih jauh lagi produk fermentasi ini dapat dijadikan salah satu bahan pangan untuk mengatasi masalah kurang gizi.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka pada penelitian ini akan dilakukan penambahan sari buah nenas untuk menguji peningkatan kadar protein pada tape ketan dengan judul “UJI PENINGKATAN KADAR PROTEIN TAPE KETAN

⁵ Haryanto Eko, dkk., *Nanas*, Penebar Swadaya, Jakarta, 1996, h. 3.

⁶ Anonim, *Perendaman Daging Paha Itik Dalam Sari Buah Nenas*, <http://dewiastari.wordpress.com/2009/12/22/hello-world/>, diakses pada 13 februari 2010.

⁷ Indro H. K., *Protein*, <http://eprints.undip.ac.id/2002/3750/>, diakses pada 15 januari 2010.

(*ORYZA GLUTINOSA AUCT*) DENGAN PENAMBAHAN SARI BUAH NENAS (*ANANAS COMOSUS*) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI”.

B. Penegasan Istilah

Agar tidak terjadi kesalahan pemahaman dan kekeliruan dalam memahami istilah yang dipakai dalam judul, maka penulis merasa perlu mengemukakan penjelasan terhadap istilah-istilah tersebut yaitu :

1. Uji peningkatan kadar protein

Uji adalah percobaan untuk mengetahui mutu sesuatu⁸, sedangkan kadar adalah ukuran untuk menentukan suatu isi atau bagian yang tulen⁹. Uji peningkatan kadar protein disini maksudnya adalah percobaan untuk mengetahui barapakah peningkatan pada ukuran atau banyaknya isi atau kandungan protein.

2. Tape ketan

Tape adalah makanan yang dibuat melalui proses fermentasi¹⁰, jadi tape ketan adalah makanan hasil fermentasi berbahan baku ketan.

3. Sari buah nenas

Sari buah nenas merupakan hasil pemerasan buah nenas yang berbentuk minuman berwarna kuning dan rasanya manis sedikit asam.

⁸ Tim Reality, *Kamus Terbaru Bahasa Indonesia I*, Reality Publisher, Surabaya, 2008, h. 660.

⁹ *Ibid.*, h. 328.

¹⁰ A. Rifai Mien, *Kamus Biologi*, Balai Pustaka, Jakarta, 2004, h. 425.

“Uji Peningkatan Kadar Protein Tape Ketan (*Oryza glutinosa auct*) dengan Penambahan Sari Buah Nenas (*Ananas comosus*) Menggunakan Metode Spektrofotometri” adalah percobaan untuk mengetahui berapakah peningkatan isi kandungan protein pada tape ketan yang pada proses pembuatannya ditambahkan sari buah nenas.

C. Batasan Masalah

Agar pokok masalah yang dibahas tidak terlalu luas dan untuk mempermudah memahami masalah maka permasalahan dibatasi sebagai berikut :

1. Subjek penelitian adalah tape ketan dengan penambahan sari buah nenas.
Nenas yang digunakan adalah nanas yang dijual di pasaran.
2. Objek penelitian adalah kadar protein tape ketan.
3. Parameter penelitian adalah pengukuran kadar protein tape ketan menggunakan metode spektrofotometri.

D. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah ada pengaruh peningkatan kadar protein pada tape ketan dengan penambahan sari buah nenas.

E. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Berdasarkan permasalahan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar protein tape ketan putih setelah diberi sari buah nenas. Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan alternatif pada masyarakat untuk mengolah makanan pokok sebagai makanan tambahan.
2. Memberikan pengetahuan pada masyarakat tentang kandungan atau kadar protein pada tape.
3. Masyarakat mengetahui bahwa buah nenas mempunyai nilai daya guna yang tinggi.
4. Masyarakat mengetahui bahwa bromelin dari ekstrak nenas dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kadar protein pada tape.

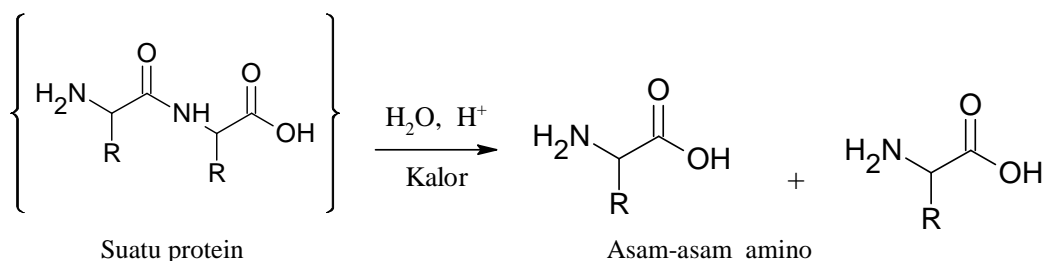
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Protein

Protein adalah polipeptida asam-asam amino dengan berat molekul yang tinggi, dibentuk oleh sel-sel hidup; diklasifikasikan berdasarkan daya larut (*albumin, globulin, skleroprotein*), bentuk (berbutir, berserat), fungsi (enzim, hormon, antibodi), dan komposisi (sederhana, konjugasi, derivatif).¹

Protein termasuk dalam kelompok senyawa yang terpenting dalam organisme hewan. Sesuai dengan peranan ini, kata protein berasal dari kata Yunani *proteios*, yang artinya “pertama”. Protein adalah *poliamida*, dan hidrolisis protein menghasilkan *asam-asam amino*.²



Gambar II.1. Hidrolisis protein

Beberapa ciri utama molekul protein yaitu :

1. Berat molekulnya besar, ribuan sampai jutaan, sehingga merupakan suatu makromolekul.
2. Umumnya terdiri atas 20 macam asam amino. Asam amino berikatan (secara kovalen) satu dengan yang lain dalam variasi urutan yang

¹ A. Rifai, Mien, *loc.cit.*, h. 392.

² Fessenden & fessenden, *Kimia Organik jilid 2*, h. 363.

bermacam-macam, membentuk suatu rantai polipeptida. Ikatan peptida merupakan ikatan antara gugus α -karboksil dari asam amino yang satu dengan gugus α -amino dari asam amino yang lainnya.

3. Terdapatnya ikatan kimia lain, yang menyebabkan terbentuknya lengkungan-lengkungan rantai polipeptida menjadi struktur tiga dimensi protein. Sebagai contoh misalnya ikatan hidrogen, ikatan hidrofob (ikatan non polar), ikatan ion atau elektrostatik dan ikatan Van der Waals.
4. Strukturnya tidak stabil terhadap beberapa faktor seperti pH, radiasi, temperatur, medium pelarut organik, dan deterjen.
5. Umumnya reaktif dan sangat spesifik, disebabkan oleh terdapatnya gugus samping yang reaktif dan susunan khas struktur makromolekulnya. Berbagai macam gugus samping yang biasa terdapat ialah gugus kation, anion, hidroksil aromatik, amin, amida, tiol, dan gugus heterosiklik.³

Diantara lebih dari tiga ratus asam amino yang terdapat di alam, dua puluhnya berupa unit monomer protein. Meskipun kode genetik yang terdiri dari tiga huruf dapat mengakomodasi lebih dari dua puluh asam amino, namun hanya dapat mengkode dua puluh asam L- α amino⁴.

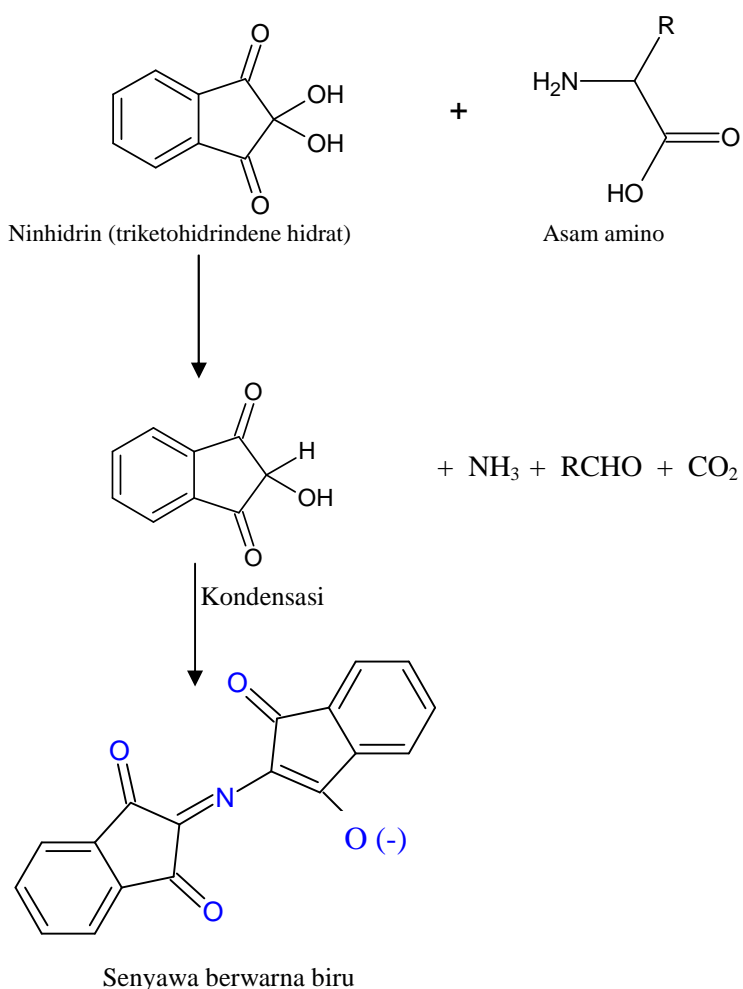
Sifat-sifat asam amino dapat larut dalam air, dapat membentuk kristal, harga konstanta dielektrikum yang tinggi, memiliki panas netralisasi seperti pada H^+ dan OH^- dan dalam medan listrik (misalnya dengan elektrophoresa) tak

³ Wirahadikusumah Muhammad, *Biokimia protein, enzim, dan asam nukleat*, ITB, Bandung, 1997, h. 8-9.

⁴Robert K. Murray, dkk., *Biokimia Harper*, ECG, Jakarta, 2009, h. 14.

bergerak (dalam keadaan tertentu). Maka asam amino memiliki sifat *amphoter* atau dalam keadaan *zwitter* ion yang memiliki muatan (+) dan (-) yang seimbang.

Sifat-sifat lain dari asam amino adalah : tak berwarna, larut dalam air, tak larut dalam alkohol atau eter, dapat membentuk garam kompleks dengan logam berat (misalnya asam amino dengan Cu^{++} membentuk senyawa kompleks berwarna biru tua) dan dapat membentuk senyawa biru dengan ninhidrin. Pembentukan senyawa berwarna antara asam amino dan ninhidrin ini banyak dipakai sebagai dasar analisa kuantitatif maupun kualitatif senyawa asam-asam amino dan protein. Reaksi asam amino dengan ninhidrin adalah sebagai berikut:



Gambar II.2. Reaksi asam amino dengan ninhidrin.

Protein maupun asam amino yang mengandung asam alfa amino akan memberikan reaksi dengan ninhidrin membentuk warna biru. Pertama kali terjadi oksidasi alfa amino oleh ninhidrin menghasilkan ninhidrin tereduksi, aldehid, amonia, dan karbondioksida. Kemudian terjadi kondensasi antara amonia, ninhidrin tereduksi dan ninhidrin terbentuk senyawaan kompleks berwarna biru.

Sampai sekarang ini, ratusan jenis protein telah dapat diketahui dengan berbagai peranannya dalam jasad hidup. Dipandang dari peranan protein dalam jasad hidup, berbagai jenis protein dapat dikelompokkan dalam kelompok-kelompok sebagai berikut :

1. Protein yang terdapat dalam plasma darah, cairan limfa, dan cairan tubuh yang lain. Protein dalam kelompok ini berperan sebagai bahan yang mengatur tekanan osmosa cairan tubuh dan karena sifatnya sebagai senyawa dapar (*buffer*) maka protein juga menjaga kestabilan pH tubuh. Protein dalam kelompok ini juga berperan sebagai pembawa asam amino yang perlu dipindahkan dari organ satu ke organ yang lain. Sebagian protein yang terlarut dalam serum cairan tubuh merupakan enzim, sedang yang lain berperan sebagai senyawa *antibody* yang melindungi tubuh dari serangan bakteri dan bahan asing lain.
2. Protein kontraksi. Protein yang terdapat dalam jaringan otot dan sel kontraksi hewan tingkat rendah. Dalam otot terdapat protein *aktin* yang dalam keadaan kontraksi akan terikat dengan protein *myosin* menjadi *aktomyosin*.

3. Protein pernafasan. Merupakan kelompok protein yang berperan mengangkut oksigen dari organ pernafasan (paru-paru insang) ke jaringan-jaringan yang memerlukan oksigen contohnya *hemoglobin*.
4. Enzim. Kelompok protein yang termasuk enzim merupakan senyawa yang mendorong (mengkatalis) reaksi-reaksi metabolisme jasad hidup. Banyak enzim yang hanya dapat bekerja aktif dengan adanya koenzim khusus yaitu senyawa bukan protein yang bermolekul sederhana yang dapat lewat membran dialisa dan stabil terhadap pemanasan.
5. Hormon. Jenis protein yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar endokrin yang kemudian diangkut oleh darah ke organ tubuh yang memerlukannya.
6. Protein persediaan makanan. Dalam jaringan hewan maupun tanaman, terdapat protein tertentu yang ditimbun sebagai cadangan makanan pada lembaga atau anak yang baru dilahirkan. Pada hewan yang bertelur (*ovopar*) protein persediaan ini terdapat dalam telur atau pada mamalia berupa susu. Sedang pada tanaman terdapat dalam biji.
7. Protein inti sel. Protein inti sel atau *nukleoprotein* merupakan jenis protein yang terpenting dalam proses penerusan sifat-sifat keturunan yang terdapat dalam kromosom. Nukleoprotein ini terdiri dari senyawa protein yang terikat dengan asam nukleat.
8. Senyawa musin dan sebangsanya (mukoid). Merupakan kelompok protein yang sangat kental yang menyusun cairan tubuh. Senyawa protein semacam ini terdapat dalam sekresi kelenjar ludah, dalam cairan pencernaan, pankreas dan usus, cairan kental pada persendian, cairan tali

pusar dan organ-organ lain yang memiliki kekentalan serupa. Kebanyakan senyawa musin ini merupakan gabungan antara protein dan polisakarida.

9. Kolagen. Merupakan kelompok protein dalam cairan pengikat, misalnya dalam tulang, tulang rawan, urat ligamen otot, kulit. Protein jenis ini tidak ditemui dalam tanaman.
10. Keratin. Kelompok protein ini tidak dapat larut dan sulit mengalami hidrolisa misalnya dalam rambut, tanduk, kulit, teracak kaki hewan, kuku, dan juga tidak terdapat dalam tanaman.

Karena banyaknya jenis protein di alam dan rumitnya struktur kimiawinya, maka tidak mudah menggolongkan jenis protein secara mutlak seperti halnya kelompok senyawa kimiawi lain yang lebih sederhana. Pengelompokan protein menurut peranannya dalam jasad hidup sering tidak selalu dapat dilakukan karena ada jenis protein yang belum jelas peranannya atau berperan lebih dari satu. Oleh sebab itu ada usaha mengklasifikasikan protein berdasarkan sifat kelarutannya. Menurut cara pengelompokan ini maka garis besar kelompok protein sederhana adalah sebagai berikut :

1. Albumin : protein yang larut dalam air.
2. Globulin : protein yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam larutan garam encer.
3. Prolamin : protein yang larut dalam etanol 70-80%, tidak larut dalam air, larutan garam ataupun etanol murni.
4. Glutelin : protein yang tidak larut dalam air, larutan garam atau etanol, tetapi dapat larut dalam larutan alkalis atau asam encer.

5. Scleroprotein : protein yang tak larut dalam air, larutan garam encer dan solven organik tapi larut dalam *buffer*.
6. Protamine dan histone : protein yang bersifat alkalis, larut dalam air dan larutan garam.

Untuk protein kompleks, pengelompokannya dibuat berdasarkan gugus prostetik yaitu bagian bukan proteinnya, sebagai berikut :

1. Nukleoprotein : protein yang mengandung asam nukleat.
2. Glikoprotein : protein yang mengandung polisakarida.
3. Lipoprotein : protein yang mengandung lipida.
4. Chromoprotein : protein yang mengandung logam yang dapat berwarna misalnya besi porfirin.
5. Fosfoprotein : protein yang mengandung asam fosfat.

Kecukupan akan protein yang dianjurkan untuk seseorang, umumnya berbeda-beda. Ini tergantung pada berat badan, umur, dan jenis kelamin serta banyaknya jaringan tubuh yang masih aktif, seperti otot-otot dan kelenjar. Makin besar dan berat orang itu, semakin banyaklah jaringan aktifnya, sehingga makin banyak pula protein yang diperlukan untuk mempertahankan atau memelihara jaringan-jaringan tersebut. Protein merupakan komponen terbesar dari tubuh manusia setelah air. Jumlahnya $\frac{1}{6}$ dari berat tubuh manusia ($\frac{1}{3}$ dari jumlah tersebut terdapat di dalam otot, $\frac{1}{5}$ terdapat pada tulang, $\frac{1}{10}$ terdapat pada kulit, lalu sisanya terdapat pada berbagai cairan tubuh).⁵

⁵ Chem.-Is-Try.org, *Mengapa protein begitu penting dalam hidup kita?*., diakses pada tanggal 30 juli 2010.

Kekurangan protein bisa berakibat fatal:

1. Kerontokan rambut (Rambut terdiri dari 97-100% dari Protein -Keratin),
2. Kwasiorkor, penyakit kekurangan protein. Biasanya diderita oleh usia 3-5 tahun,
3. Kekurangan yang terus menerus menyebabkan marasmus dan berakibat kematian.

B. Enzim

Hakikat enzim adalah sebagai protein dan enzim pun didefinisikan oleh Dikson dan Webb sebagai suatu protein yang bersifat katalis. Definisi ini disebabkan oleh kemampuannya untuk mengaktifkan senyawa lain secara spesifik⁶. Enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa, yang biasanya jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Spesifitas enzim amat tinggi terhadap substratnya, enzim mempercepat reaksi kimiawi spesifik tanpa pembentukan produk samping, dan molekul ini berfungsi di dalam larutan encer pada keadaan pH dan suhu normal. Hanya sedikit katalisator non biologi yang dilengkapi dengan sifat-sifat ini.

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Bekerja dengan urutan-urutan yang teratur, enzim mengkatalisis ratusan reaksi bertahap yang menguraikan molekul nutrien, reaksi yang menyimpan dan mengubah energi kimiawi, dan yang membuat makromolekul sel dari prekursor sederhana.

⁶ Sadikin mohamad, *Biokimia Enzim*, Widya Medika, Jakarta, 2002, h. 29-43.

Pada beberapa penyakit, terutama gangguan genetik yang menurun, mungkin terdapat kekurangan atau bahkan kehilangan satu atau lebih enzim pada jaringan. Pada keadaan abnormal lainnya, aktivitas yang berlebihan dari suatu enzim tertentu, kadang-kadang dapat dikontrol oleh obat yang dibuat untuk menghambat aktivitas katalitiknya. Selanjutnya, pengukuran aktivitas enzim tertentu pada plasma darah, sel darah merah, atau contoh jaringan penting bagi diagnosa penyakit. Enzim telah menjadi alat praktis yang penting, bukan hanya dalam dunia kesehatan, tetapi juga dalam industri, dalam pengolahan pangan dan pertanian.

Banyak enzim yang telah dinamakan dengan menambah akhiran *-ase* kepada nama substratnya. Jadi, *urease* mengkatalisis hidrolisis urea, dan *arginase* mengkatalisis hidrolisis arginin. Tetapi banyak enzim yang telah dinamakan dengan tidak menerangkan substratnya, seperti *pepsin* dan *trypsin*. Juga pada kenyataannya satu enzim yang sama dikenal dengan dua atau lebih nama, atau bahwa dua enzim yang berbeda telah diberikan nama yang sama. Karena itu, dan karena hal-hal lain yang masih kabur, juga dengan terus meningkatnya jumlah enzim yang baru ditemukan, suatu dasar penemuan dan penggolongan enzim secara sistematis telah dikemukakan oleh persetujuan internasional⁷.

⁷ Albert L. Lehninger, *Dasar-dasar Biokimia Jilid I*, Erlangga, Jakarta, h. 236-238.

Berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis, enzim dapat dibagi menjadi beberapa golongan utama, yaitu :

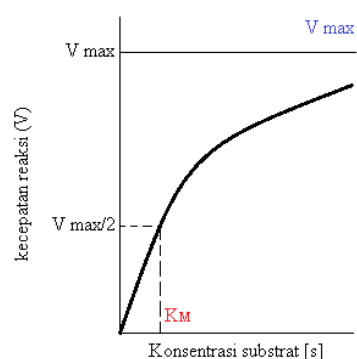
1. Oksidoreduktase : kelompok enzim yang mengerjakan reaksi reduksi dan oksidasi. Contoh : katalase (1.11.1.6 Enzim yang bekerja pada H_2O_2 : disebut H_2O_2 Oksidoreduktase).
 - 1.1 bekerja pada gugus C-OH
 - 1.4 bekerja pada gugus CH-NH_2
 - 1.11 bekerja pada gugus H_2O_2
2. Transferase : kelompok enzim yang berperan dalam reaksi pemindahan suatu gugus dari suatu senyawa kepada senyawa lain antara sepasang substrat. Contoh : heksokinase (2.7.1.1 Pemindah gugus yang mengandung Fosfat, misalnya ATP : D heksosa-6 fosfo tranferase)
 - 2.3 pemindah gugus asil transferase
 - 2.7 pemindah gugus fosfat
3. Hidrolase : kelompok enzim yang berperan dalam reaksi hidrolisis, artinya memerlukan bantuan satu molekul air yang akan dipecah dan dimasukkan ke dalam senyawa-senyawa yang baru terbentuk sebagai hasil pemecahan. Mengkatalisis hidrolisis ikatan ester, eter, peptida, glikosil, anhidrida asam, C-C, C-halida, P-N. Contoh : pseudokolin esterase (3.1.1.8 Asilkolin asilhidrolase).
4. Liase : kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi adisi atau pemecahan ikatan rangkap. Contoh : fumarase (4.2.1.2 L-malat-hidro-liase) $\text{L-malat} = \text{fumarat} + \text{H}_2\text{O}$.

5. Isomerase : kelompok enzim yang mengatalisis perubahan konformasi molekul (isomerisasi). Contoh : triosa fosfat isomerase, 5.3.1.1 D-gliseraldehida-3 fosfat keto isomerase.

6. Ligase (sintetase) : kelompok enzim yang mengatalisis pembentukan ikatan kovalen⁸. Contoh : Glutamin sintase 6.3.1.2 L-glutamat : Amonia ligase (ADP) ATP L-glutamat + NH₄ = ADP + Ortofosfat L glutamin⁹.

Enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan peptida pada bagian dalam rantai polipeptida disebut *endopeptidase*, sedangkan yang mengkatalisis pemecahan pada ujung-ujung rantai polipeptida disebut *eksopeptidase*. Kimotripsin adalah suatu *endopeptidase* yang khas menyerang hanya pada ikatan peptida yang gugus karbonilnya merupakan residu asam amino aromatik, seperti tirosin, triptofan, dan fenilalanin.

Model Michaelis-Menten menjelaskan sifat kinetik banyak enzim. Bagi banyak enzim, laju katalisis berubah sesuai dengan konsentrasi substrat, menurut cara pada gambar berikut :



Gambar II.3. Model Michaelis-Menten tentang sifat kinetik enzim.

⁸ Yasid Estein dan Linda Nursanti, *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis*, ANDI, Yogyakarta, 2006, h. 18.

⁹ Brantas Pamungkas, *Biokimia Enzim*. <http://brantas1984.wordpress.com/2009/05/02/biokimia-enzim/>, diakses pada tanggal : 26 Agustus 2010.

V didefinisikan sebagai jumlah mol produk yang terbentuk tiap detik pada suatu konsentrasi enzim tertentu. V bisa dikatakan berbanding lurus dengan [s] bila [s] kecil. Bila [s] besar maka V tidak tergantung lagi dengan [s]. Pada tahun 1913, Leonor Michaelis dan Maud Menten mengajukan suatu model sederhana untuk menjelaskan ciri-ciri kinetik seperti ini. Suatu hal yang sangat penting dalam model tersebut ialah bahwa suatu kompleks ES diperlukan sebagai senyawa antara pada proses katalisis. Model yang diajukan, yang merupakan model yang paling sederhana untuk menjelaskan sifat kinetik banyak enzim ialah :



Suatu enzim E berikatan dengan S membentuk kompleks ES dengan suatu tetapan kecepatan k_1 . Kompleks ES mempunyai dua kemungkinan. Kompleks ini dapat terurai kembali menjadi E + S dengan suatu tetapan k_2 , atau melanjutkan membentuk produk P, dengan tetapan kecepatan k_3 . Dianggap pula bahwa hampir tidak ada produk yang diubah kembali menjadi substrat awal. Keadaan ini berlaku pada tahap awal reaksi, sebelum konsentrasi produk menjadi cukup besar.

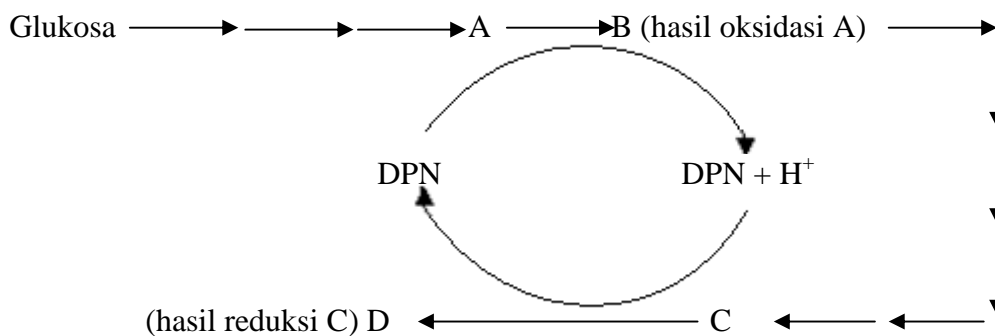
C. Fermentasi

Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi-reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana sebagai donor dan aseptor elektron digunakan senyawa organik. Senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan

katalis enzim menjadi suatu produk lain, misalnya aldehida, dan dapat dioksidasi menjadi asam¹⁰.

Sel-sel yang melakukan fermentasi mempunyai enzim-enzim yang akan mengubah hasil dari reaksi oksidasi, dalam hal ini adalah asam, menjadi suatu senyawa yang mempunyai muatan lebih positif sehingga dapat menangkap elektron atau bertindak sebagai aseptor elektron terakhir dan menghasilkan energi.

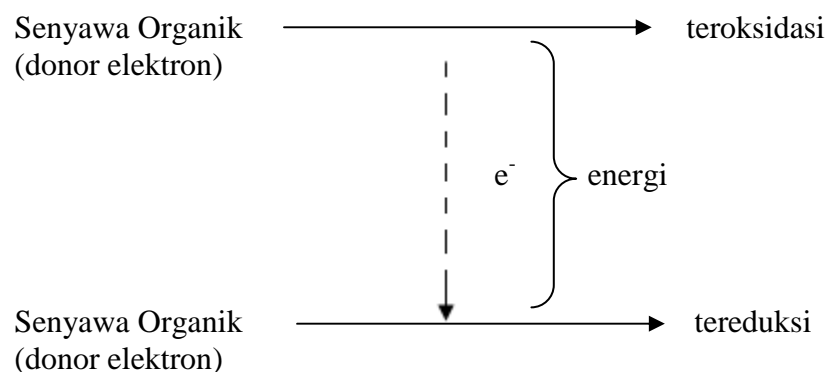
Secara lebih jelas reaksi tersebut dapat diterangkan melalui skema berikut :



Gambar II.4. Skema reaksi proses fermentasi I.

Didalam proses fermentasi, kapasitas mikroba untuk mengoksidasi tergantung dari jumlah aseptor elektron terakhir yang dapat dipakai.

Secara lebih singkat skema proses fermentasi adalah sebagai berikut:



Gambar II.5. Skema reaksi proses fermentasi II.

¹⁰ Winarno F.G., dkk., *loc.cit.*, h. 26-27.

Sesuai dengan kandungan mikroba yang terdapat pada ragi tape tersebut, maka peranan mikroorganisme dalam proses fermentasi dibagi menjadi dua berdasarkan tahap fermentasi, yaitu:

1. Tahap I. Selama proses fermentasi kapang akan mengubah pati menjadi gula sederhana. Kapang menghasilkan enzim-enzim α -amilase, β -amilase dan glukamilase.
2. Tahap II. Setelah terbentuk gula maka khamir akan mengubah gula menjadi alkohol, karbondiooksida dan senyawa lain. Khamir ini akan menghasilkan enzim invertase, zimase, karboksilase, maltase, melibiose, heksokinase, L-laktase, dehidrogenase, glukose-6-fosfat dehidrogenase dan alkohol dehidrogenase.

Proses fermentasi tidak hanya menimbulkan efek pengawetan tetapi juga menyebabkan perubahan tekstur, cita rasa dan aroma bahan pangan yang membuat produk fermentasi lebih menarik, mudah dicerna dan bergizi.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi, antara lain adalah sebagai berikut :

1. pH

Mikroba tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Khamir dapat hidup pada pH rendah yaitu antara 1-2.

2. Suhu

Suhu yang digunakan dalam fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Suhu optimal pada proses fermentasi yaitu 35° C dan 40° C.

3. Oksigen

Derajat anaerobiosis adalah merupakan faktor utama dalam pengendalian fermentasi. Bila tersedia O_2 dalam jumlah besar, maka produksi sel-sel khamir dipacu. Bila produksi alkohol yang dikehendaki, maka diperlukan suatu penyediaan O_2 yang sangat terbatas. Produk akhir dari suatu fermentasi sebagian dapat dikendalikan dengan tegangan O_2 substrat apabila faktor-faktor lainnya optimum.

4. Substrat

Mikroba memerlukan substrat yang mengandung nutrisi sesuai dengan kebutuhan untuk pertumbuhannya. Perubahan yang terjadi sebagai hasil fermentasi mikroorganisme dan interaksi yang terjadi diantara produk dari kegiatan-kegiatan tersebut dan zat-zat yang merupakan pembentuk bahan pangan tersebut.

D. Tape Ketan

Aneka bahan pangan yang mengandung karbohidrat dapat diolah menjadi makanan khas yang disebut tape. Bahan pangan yang umumnya dibuat tape adalah ubi kayu (singkong), beras ketan putih maupun beras ketan hitam serta sorgum.

Tape mempunyai tekstur yang lunak, rasa yang asam manis dan sedikit mengandung alkohol. Selama fermentasi, tape mengalami perubahan-perubahan biokimia akibat aktivitas mikroorganisme. Pada dasarnya semua bahan pangan yang kaya akan karbohidrat dapat diolah menjadi tape.

Berdasarkan bahan bakunya, dikenal berbagai jenis tape yaitu tape ketan, tape singkong, tape beras, tape sorgum, tape pisang, tape ubi jalar dan tape sukun, akan tetapi dewasa ini yang paling populer adalah tape singkong dan tape ketan.

TABEL II.1
KOMPOSISI GIZI TAPE SINGKONG, TAPE KETAN PUTIH DAN TAPE
KETAN HITAM (DALAM 100 GRAM BAHAN).¹¹

Zat gizi Tape	Tape singkong	Tape ketan putih	Tape ketan hitam
Energi (k kal)	173	172	166
Protein (g)	0,5	3,0	3,8
Lemak (g)	0,1	0,5	1,0
Karbohidrat (g)	42,5	37,5	34,4
Kalsium (mg)	30	6	8,0
Fosfor (mg)	30	35	106,0
Besi (mg)	0	0,5	1,6
Vitamin B ₁ (mg)	0,07	0,04	0,02
Air (g)	56,1	58,9	50,2

E. Nenas (*Ananas Comosus*)



Nenas (*Ananas comosus*) sebenarnya bukan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini masuk ke Indonesia pada tahun 1599 dibawa oleh para pelaut Spanyol dan Portugis.

Gambar II.6. Nenas (*Ananas comosus*).

Sebagai salah satu tanaman holtikultura, nanas sangat cocok dibudidayakan di daerah tropis yang cukup banyak turun hujan. Tanaman ini tidak akan tumbuh baik di tempat yang terlalu kering maupun pada lahan yang airnya tergenang. Di Indonesia, hampir semua daerah dapat dibudidayakan nanas.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan setiap 100 g buah nanas mengandung 24,0 mg vitamin C dan zat-zat seperti tercantum pada tabel II.2.

TABEL II.2
KANDUNGAN ZAT GIZI DALAM 100 GRAM BUAH NENAS¹²

Zat gizi	Banyaknya
Protein	0,4 g
Lemak	0,2 g
Karbohidrat	13,7 g
Kalsium	16,0 mg
Fosfor	11,0 mg
Besi	0,3 mg
Vitamin A	130 iu
Vitamin B	0,08 mg
Vitamin C	24,0 mg
Air	85,3 g

¹² Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan RI, 1979

Sistematika nanas sesuai dengan taksonominya dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

<i>Divisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Subdivisio</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Monokotiledonae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Farinosae</i>
<i>Familia</i>	: <i>Bromeliaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Ananas</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Ananas comosus</i> . ¹³
<i>Sinonim</i>	: <i>nenas, nanas, ganas, naneh</i> . ¹⁴

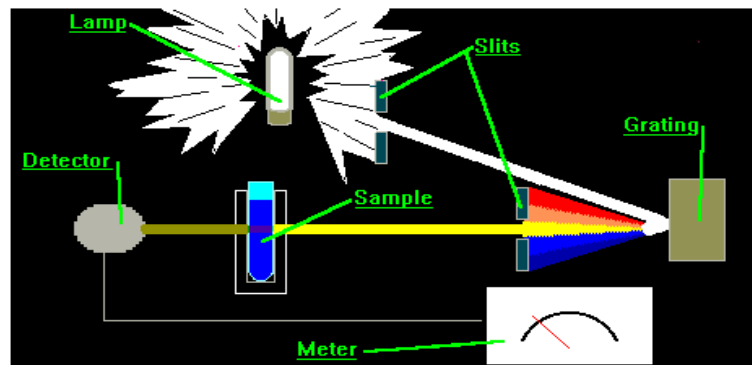
Secara sistematis buah bromelin juga diberi kode yaitu : EC 3.4.22.33, sedangkan bagian batang bromelin diberi kode : EC 3.4.22.32

F. Spektrofotometer

Spektrofotometer adalah alat yang dapat digunakan untuk mengukur absorbansi dari suatu sampel. Pada spektrofotometri ini yang digunakan sebagai sumber sinar/energi adalah cahaya tampak (*visible*). Cahaya *visible* termasuk spektrum elektromagnetik yang dapat ditangkap oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380 sampai 750 nm. Sehingga semua sinar yang dapat dilihat oleh kita, yaitu putih, merah, biru, hijau, apapun, selama ia dapat dilihat oleh mata, maka sinar tersebut termasuk ke dalam sinar tampak (*visible*).

¹³ Haryanto Eko, dkk., *loc.cit.*, h. 9.

¹⁴ Anonim, *Nenas Subang identitas Flora Kabupaten Subang*, http://clearinghouse.bplhdjabar.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=166%3Anenas-subang-identitas-flora-kabupaten-subang&catid=82%3Aidentitas-flora&Itemid=199&lang=id, diakses pada 26 april 2010.



Gambar II.7. Spektrofotometer

Sumber sinar tampak yang umumnya dipakai pada spektro *visible* adalah lampu *Tungsten*. Tungsten yang dikenal juga dengan nama *Wolfram* merupakan unsur kimia dengan simbol W dan nomor atom 74. Tungsten mempunyai titik didih yang tertinggi (3422 °C) dibanding logam lainnya, karena sifat inilah maka ia digunakan sebagai sumber lampu.

Sampel yang dapat dianalisa dengan metode ini hanya sampel yang memiliki warna. Hal ini menjadi kelemahan tersendiri dari metode spektrofotometri *visible*. Oleh karena itu, untuk sampel yang tidak memiliki warna harus terlebih dulu dibuat berwarna dengan menggunakan reagen spesifik yang akan menghasilkan senyawa berwarna. Reagen yang digunakan harus betul-betul spesifik hanya bereaksi dengan analat yang akan dianalisa. Selain itu juga produk senyawa berwarna yang dihasilkan harus benar-benar stabil.

Salah satu contohnya adalah pada analisa kadar protein terlarut (*soluble protein*). Protein terlarut dalam larutan tidak memiliki warna. Oleh karena itu, larutan ini harus dibuat berwarna agar dapat dianalisa. Reagen yang biasa digunakan adalah reagen Folin dan reagen Biuret.

Protein terlarut direaksikan dengan Folin dalam suasana sedikit basa, ikatan peptida pada protein akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna biru yang dapat dideteksi pada panjang gelombang sekitar 578 nm. Semakin tinggi intensitas warna biru menandakan banyaknya senyawa kompleks yang terbentuk yang berarti semakin besar konsentrasi protein terlarut dalam sampel. Sedangkan pada reagen biuret berdasarkan kenyataan bahwa dua atau lebih ikatan peptida dapat berikatan secara kovalen koordinasi dengan ion Cu^{2+} dari tembaga (II) sulfat yang berasal dari pereaksi biuret dalam suasana alkalis. Ion Cu^{2+} ini berikatan dengan dua atom nitrogen dan dua atom oksigen dari ikatan peptida membentuk senyawa kompleks yang berwarna ungu yang dapat diukur secara spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan Mei - Juni 2010.

2. Tempat

Pembuatan tape dan uji kadar protein dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Alat yang digunakan untuk membuat tape antara lain : dandang, kompor, sendok, kain saring, blender, gelas ukur dan termometer.
- b. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar protein antara lain : spektrofotometer, blender, timbangan analitik, tabung reaksi, pipet mikro, gelas ukur, penyaring, sentrifuse, labu ukur.

2. Bahan

- a. Bahan yang digunakan untuk pembuatan tape antara lain : sari buah nenas, ketan putih 1,5 kg, ragi tape, daun tebu, dan daun pisang/ daun keladi.

- b. Bahan yang digunakan untuk uji kadar protein antara lain : aquades, ekstrak tape ketan putih masing-masing 100 ml, Tembaga (II) sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Kalium natrium tartrat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Natrium hidroksida 10%, Amonium sulfat kristal, dapar Asam asetat, dan Bovin serum albumin (BSA) .

C. Cara Kerja

1. Pembuatan sari buah nenas

- a. Disiapkan buah nenas yang masih segar 1 buah.
- b. Dikupas kulit nenas dengan pisau sampai bersih.
- c. Dicuci nenas dengan air sampai bersih.
- d. Dihaluskan nenas dengan cara diparut.
- e. Nenas yang telah halus disaring untuk mengambil airnya atau sari buah nenas.

2. Pembuatan tape ketan

- a. Disediakan ketan putih, masing-masing perlakuan 0,5 Kg sebanyak tiga kali perlakuan (jumlah total 1,5 Kg).
- b. Dicuci bersih semua peralatan yang akan digunakan, lalu keringkan
- c. Dicuci bersih beras ketan yang akan digunakan
- d. Beras ketan direndam selama 5 jam
- e. Setelah direndam selama 5 jam, beras ketan tersebut diangkat lalu dibilas dengan air beberapa kali

- f. Beras ketan tersebut dikukus sampai siap untuk difermentasi.
 - g. Kemudian ditambahkan dengan air rebusan daun tebu secukupnya
 - h. Dan ditambahkan sari buah nenas pada ketan masing-masing sebanyak 25 ml dan 50 ml per 0,5 kg ketan, sedangkan satu perlakuan tidak ditambahkan sari buah nenas sebagai kontrol¹.
 - i. Ketan dipertahankan pada suhu 40°C selama 15 menit.
 - j. Angkat beras ketan yang telah matang, lalu letakkan di atas tampah atau baskom, dinginkan dengan cara mengipasinya
 - k. Setelah dingin campurkan ragi yang telah dihaluskan dan aduk sampai merata.
 - l. Dimasukkan ke dalam bejana yang dilapisi daun pisang atau daun keladi.
 - m. Simpan selama 2-3 hari.
3. Pembuatan reagen
- a. Pembuatan Natrium hidroksida 10% : 10 gram NaOH dilarutkan ke dalam 30 ml air, setelah larut dan dingin masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, dan diencerkan sampai tanda batas pada labu.
 - b. Pembuatan reagen Biuret : 150 mg Tembaga (II) sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dan 600 mg Kalium natrium tartrat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam 50 ml Aquades dalam labu takar 100 ml. Kemudian ditambahkan 30 ml

¹ Sunarmi, *Pengaruh Ekstrak Daun Suji Terhadap Kadar Glukosa dan Alkohol Pada Tape Ketan Putih*, Skripsi FKIP Jurusan Biologi UMS, Surakarta, 2005, tt.

Natrium hidroksida 10% sambil dikocok-kocok, selanjutnya tambahkan Aquades sampai tanda batas².

c. Pembuatan bufer asetat (*acetate buffer*) dengan pH 5 :

A : dibuat larutan asam asetat dengan konsentrasi 0,2 M (11,55 mL dalam 1000 mL),

B : dibuat larutan sodium asetat dengan konsentrasi 0,2 M (16,4 gram $C_2H_3O_2Na$ atau 27,2 gram $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$ dalam 1000 mL).

Kemudian larutan A dan B dicampurkan masing-masing sebanyak 20 mL dan 35,2 mL dalam labu 100 mL. Dan untuk memastikan pH nya dapat diukur kembali menggunakan pH meter.

4. Penentuan panjang gelombang optimum

- a. 1 gram Bovin ditimbang lalu dilarutkan dalam Aquades sampai 10,0 ml sehingga kadar larutan induk (Li) sebesar 10%.
- b. Dalam tabung reaksi dimasukkan larutan standar 900 μ l ditambahkan pereaksi biuret 800 μ l kemudian dicukupkan volume sampai 3 ml larutan dengan aquades, didiamkan selama 10 menit lalu serapan diukur pada panjang gelombang antara 530-600 nm. Panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dicatat.

5. Pembuatan kurva standar

² Sumantri, Abdul Rohman, *Analisis Makanan*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 2007, h. 15.

- a. Pembuatan larutan induk Bovin serum albumin (BSA) : sebanyak 1 gram bovin ditimbang secara seksama lalu dilarutkan dalam aquades sampai 10,0 ml sehingga kadar larutan induk (Li) sebesar 10%.
- b. Pembuatan kurva standar : dalam tabung reaksi dimasukkan larutan induk masing-masing 0, 300, 600, 900, 1200, dan 1500 μl ditambah pereaksi biuret masing-masing 800 μl , kemudian dicukupkan volume sampai 3 ml larutan dengan Aquades. Didiamkan selama 10 menit.

TABEL III.1
PEMBUATAN KURVA STANDAR

Li (μl)	Pereaksi biuret (μl)	Aquades (μl)	Kadar BSA (%)
300	800	1900	1
600	800	1600	2
900	800	1300	3
1200	800	1000	4
1500	800	700	5

- c. Setelah tepat 10 menit, absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang optimum.
6. Pengukuran kadar protein
- a. Masing-masing tape ketan diblender, lalu disaring menggunakan kain saring.

- b. Cara mempersiapkan sampel : diambil sampel protein yang terlarut (tape ketan), endapkan dahulu dengan penambahan amonium sulfat kristal (sampai mendekati kejenuhan amonium sulfat dalam larutan). Protein yang mengendap disentrifugasi dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit, pisahkan supernatannya. Endapan yang merupakan protein kemudian dilarutkan kembali dengan dapar asam asetat pH 5 sampai 10 mL.
- c. Dalam tabung reaksi dimasukkan sampel masing-masing 900 μ l ditambahkan pereaksi biuret 800 μ l dan ditambah 1300 μ l larutan dapar asam asetat pH 5, didiamkan selama 10 menit pada temperatur kamar (20-25°C)
- d. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang optimum.

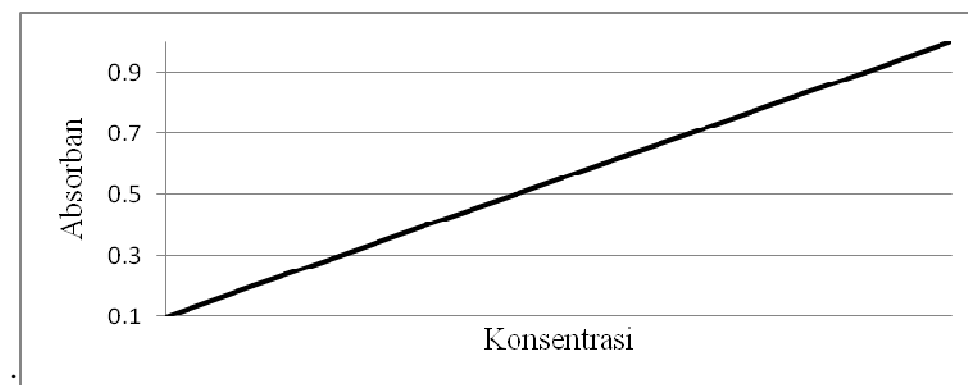
D. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini dengan menguji (menganalisis) kadar protein pada tepe ketan. Alat yang digunakan untuk uji kadar protein adalah spektrofotometer.

Salah satu penentuan konsentrasi pada spektrofotometer adalah dengan menggunakan kurva kalibrasi. Dengan cara ini tidak perlu bertumpu pada absorptivitas molar, realibilitas hukum Beert-Lambert, bahkan dimensi sel larutan. Dengan melihat absorban dari masing-masing konsentrasi larutan standar, kemudian dibuat grafik antara absorbansi lawan konsentrasi. Ini merupakan kurva kalibrasi.

Berdasarkan hukum Beert-Lambert absorbansi sebanding dengan konsentrasi, diharapkan mendapat garis lurus sehingga terbentuk suatu kurva. Selama bekerja pada kisaran konsentrasi yang diamati.

Untuk grafik paling baik, kurva kalibrasinya akan tampak seperti gambar

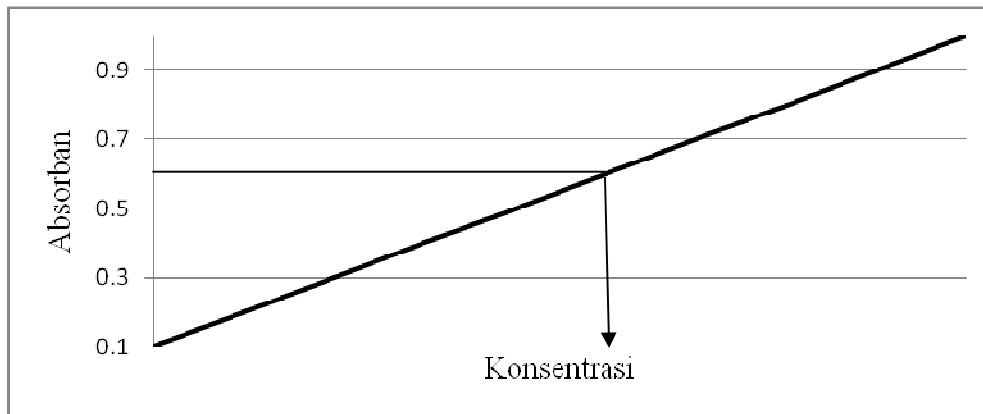


Gambar III.1. Kurva standar

Jika hukum Beert-Lambert bekerja sempurna, garis tersebut akan melewati titik nol, tetapi hal ini tidak menjamin untuk konsentrasi yang diamati. Dan jika tidak terbentuk garis lurus yang sempurna, maka dapat ditarik garis lurus dengan menggunakan rumus *regresi linier* : $Y = a + bX$.³

Kemudian barulah dihitung absorbansi larutan yang tidak diketahui konsentrasinya pada panjang gelombang yang sama (panjang gelombang optimum). Jika, sebagai contoh 0,600, maka dapat dibaca hubungannya dengan konsentrasi pada grafik sebagai berikut :

³Ratno Dwi Santoso, dkk., *Analisis Regresi*, Andi Offset, Yogyakarta, 1992, h. 12.



Gambar III.2. Penentuan konsentrasi sampel dilihat dari kurva standar.

Semua konsentrasi sampel dapat diketahui melalui data absorbansi yang didapat. Data hasil perolehan seluruhnya kemudian disajikan dalam bentuk tabel III.2.

TABEL III.2
HASIL KADAR PROTEIN YANG TERDAPAT PADA TAPE KETAN DENGAN
ALAT SPEKTROFOTOMETER

Perlakuan	Kadar	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
		1	2	3		
P ₀	Protein (%)					
P ₁						
P ₂						

E. Teknik Analisa Data

Pada penelitian ini, analisis data yang digunakan adalah dengan menggunakan anova satu arah. Anova satu arah/ jalur (*one way classification*) mempunyai makna bahwa semua pengamatan dalam penyelidikan diklasifikasikan menurut satu kriteria tertentu. Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok sampel dengan variasi penambahan sari buah nanas yang berbeda, dan masing-masing kelompok sampel terdiri dari 3 kali ulangan atau 3 pengamatan, maka analisa data pada pengamatan ini akan berbentuk sebagai berikut :

1. Anova satu arah.

Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

a. Menentukan Derajat Bebas (DB)

1) DB total = jumlah seluruh observasi

2) DBBS = jumlah perlakuan - 1

3) DBWS = DB total – DBBS

b. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$1) C \text{ (Faktor Koreksi)} = \frac{(\text{total perlakuan})^2}{\text{jumlah seluruh observasi}} = \frac{\sum \sum X_{ij}^2}{k.n}$$

$$2) JK \text{ total} = \sum \sum X_{ij}^2 - C$$

$$3) JKBS = \sum^k \frac{(\sum X)^2}{n_i} - C$$

$$4) JKWS = JK \text{ total} - JKBS$$

c. Menghitung rata-rata kuadrat (RK)

$$1) RKBS = \frac{JKBS}{DBBS}$$

$$2) RKWS = \frac{JKWS}{DBWS}$$

d. Mencari F rasio

$$1) F \text{ rasio} = \frac{RKBS}{RKWS}$$

e. Melihat Ftabel untuk 5%

f. Membuat dapat sidiq ragam untuk rancangan acak lengkap⁴

TABEL III.3

HASIL UJI ANOVA SATU ARAH "UJI KADAR PROTEIN PADA TAPE KETAN DENGAN PENAMBAHAN SARI BUAH NENAS MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI".

Sumber variasi	DB	JK	RK	F rasio	F tabel 5%
1. Antar sampel (BS)					
2. Dalam sampel (WS)					
Jumlah					

⁴Tjipto Sanjoto, *Pengujian Hipotesa*, Badan Penerbitan Universitas Tarumanegara, Jakarta, 1992, h. 52-54.

2 Dari hasil perhitungan anova satu arah bila data menunjukkan signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 5%. Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

a. Menentukan :

- 1) Rata-rata kuadrat dalam sampel (RKWS)
- 2) Derajat bebas dalam sampel (DBWS)
- 3) r : ulangan
- 4) t : 5%.

b. Menghitung Sd

$$Sd = \sqrt{\frac{2 \cdot RKWS}{r \text{ (ulangan)}}}$$

c. Menghitung BNT (Beda Nyata Terkecil) 5%

$$BNT \ 5\% = t \ 5\% \times Sd$$

d. Membuat tabel BNT taraf 5%.

e. Membandingkan nilai rata-rata perlakuan dalam tabel dengan BNT 5%.

f. Membuat keputusan uji BNT taraf 5%.

Keterangan :

DBBS = Derajat bebas *between* (antara) sampel

DBWS = Derajat bebas *within* (dalam) sampel

JKT = Jumlah kuadrat total

JKBS = Jumlah kuadrat *between* (antara) sampel

JKWS = Jumlah kuadrat *within* (dalam) sampel

C = Faktor koreksi

RK = Rata-rata kuadrat.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini proses pembuatan tape ketan dibuat seperti biasa membuat tape ketan pada umumnya, namun setelah beras ketan dikukus dan sebelum ditambahkan ragi, pada suhu 40°C ketan ditambahkan sari buah nenas (ketan dibagi menjadi 3 bagian, yaitu kontrol, penambahan sari nenas 25 mL, dan penambahan sari nenas 50 mL), sari buah nenas yang digunakan berasal dari buah nenas yang setengah masak, lalu nenas diparut dan disaring airnya, kemudian suhu pada ketan dipertahankan untuk mengoptimalkan kerja enzim pada nenas selama ± 15 menit.

Kemudian ketan dibiarkan dingin selama ± 1 jam, barulah bisa ditambahkan ragi, hal ini bertujuan agar bakteri pada ragi tidak mati dan mampu berkembang biak. Ragi yang digunakan mengandung bakteri *Saccharomyces cerevisiae*, dapat merubah karbohidrat menjadi alkohol, dan karbon dioksida. Setelah ragi tercampur rata, ketan dibungkus menggunakan daun pisang dan didiamkan ditempat yang bersih.

Pembuatan tape ini berlangsung selama dua sampai tiga hari, dalam waktu tiga hari itu tape masih bisa dimakan karena tape belum berubah menjadi alkohol, tapi jika tape sudah lebih dari tiga hari pada suhu kamar, tape tidak bisa dimakan (dikonsumsi) karena sudah berubah menjadi alkohol selain itu juga tape tersebut sudah membusuk.

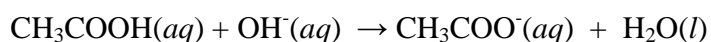
Dalam fermentasi tape ketan, terlibat beberapa mikro organisme yang disebut dengan mikrobia perombak pati menjadi gula yang menjadikan tape pada awal

fermentasi terasa manis, yang menyebabkan tape ketan berubah menjadi alkohol karena adanya bakteri *Actobakter aceti* (alkohol menjadi asam asetat).

Pada proses pembuatan tape ini ada beberapa hal yang harus diperhatikan supaya proses fermentasi tersebut berlangsung secara sempurna. Hal tersebut adalah harus bersihnya peralatan yang digunakan. Selain itu juga, harus menggunakan beras ketan dan ragi yang berkualitas.

Setelah tape ketan siap, diuji kadar proteinnya dengan menggunakan metode biuret. Pada uji menggunakan metode biuret ini, sampel masing-masing 900 μ l ditambahkan pereaksi biuret 800 μ l dan ditambah 1300 μ l larutan dapar asam asetat pH 5. Larutan *buffer* ini bertujuan untuk mempertahankan nilai pH pada sampel, yang terbentuk dari larutan Asam asetat 0,2 M (asam lemah) dan Sodium asetat 0,2 M (basa konjugasi dari asam lemah) yang dicampur dengan masing-masing sebanyak 14,8 mL dan 35,2 mL dalam labu 100 mL. Dan untuk memastikan pH nya dapat diukur kembali menggunakan pH meter.

Pada larutan *buffer* asam ini terjadi penambahan basa (reagen biuret), maka ion OH^- dari basa itu akan bereaksi dengan ion H^+ membentuk air. Hal ini akan menyebabkan kesetimbangan bergeser ke kanan sehingga konsentrasi ion H^+ dapat dipertahankan. Jadi, penambahan basa menyebabkan berkurangnya komponen asam (CH_3COOH), bukan ion H^+ . Basa yang ditambahkan tersebut bereaksi dengan asam CH_3COOH membentuk ion CH_3COO^- dan air.



Adanya larutan penyangga ini dapat kita lihat dalam kehidupan sehari-hari seperti pada obat-obatan, fotografi, industri kulit, dan zat warna. Selain aplikasi tersebut, terdapat fungsi penerapan konsep larutan penyangga ini dalam tubuh manusia seperti dalam cairan tubuh. Cairan tubuh ini bisa dalam cairan intrasel maupun cairan ekstrasel. Adapun sistem penyangga tersebut, dapat menjaga pH darah yang hampir konstan yaitu sekitar 7,4.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan tentang uji peningkatan kadar protein dengan penambahan sari buah nenas dapat disajikan hasil serta pembahasannya sebagai berikut:

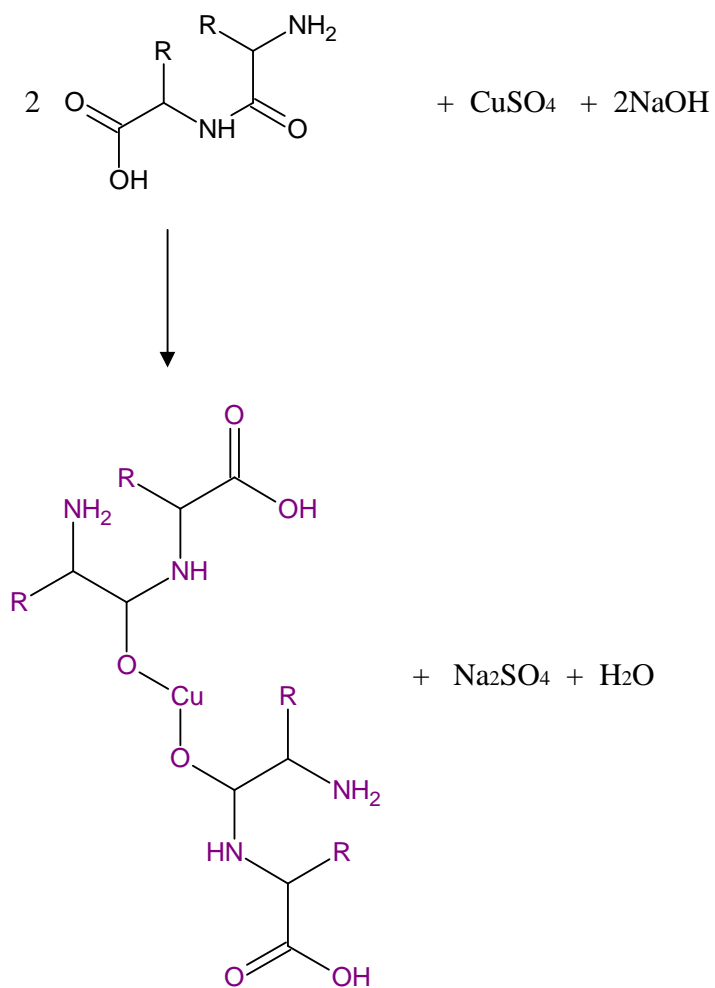
A. Metode Biuret

Pada penelitian ini uji kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode biuret. Metode ini lebih baik jika dibandingkan dengan cara Kjeldhal karena hanya protein atau senyawa peptida yang bereaksi dengan biuret, kecuali urea.

Larutan protein dibuat alkalis dengan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO_4 encer. Uji ini untuk menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam ($-\text{CONH}_2$) yang berada bersama gugus amida asam yang lain seperti $-\text{CSNH}_2$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$; $-\text{CH}_2\text{NH}_2$; $-\text{CRH}\text{NH}_2$; $-\text{CHOHCH}_2\text{NH}_2$; $-\text{CHNH}_2\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CHNH}_2\text{CHOH}$.

Dengan demikian uji biuret tidak hanya untuk protein tetapi zat lain seperti biuret atau malonamida juga memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna merah-violet atau biru-violet.

Reaksi yang terjadi dapat dituliskan sebagai berikut :



Senyawa berwarna biru-violet

Gambar IV.1. Reaksi senyawa larutan biuret.

Intensitas warna tergantung pada konsentrasi protein yang ada. Semakin tinggi intensitas warna biru menandakan banyaknya senyawa kompleks yang terbentuk yang berarti semakin besar konsentrasi protein terlarut dalam sampel. Penentuan protein cara biuret adalah dengan mengukur *optical density* (OD) atau absorban pada panjang gelombang 560-580 nm. Hal ini didasarkan karena warna sinar tampak dapat

dihubungkan dengan panjang gelombangnya. Warna-warna yang dihubungkan dengan panjang gelombang dapat diringkas pada tabel IV.1. Warna komplementer merupakan warna yang jika salah satu komponen warna putih dihilangkan dari warna tersebut (biasanya dengan absorpsi) maka sinar yang dihasilkan akan nampak sebagai komplemen warna yang diserap tadi. Jadi jika warna hijau kekuningan (560-580 nm) dihilangkan dari sinar putih tersebut (atau warna hijau kekuningan diabsorpsi), maka yang dihasilkan adalah warna ungu (lembayung).

TABEL IV.1
HUBUNGAN ANTARA WARNA DENGAN PANJANG GELOMBANG SINAR
TAMPAK.

Panjang gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati/ warna komplementer
400 – 435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
450 – 480 nm	Biru	Kuning
480 – 490 nm	Biru kehijauan	Orange
490 – 500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560 nm	Hijau	Merah anggur
560 – 580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580 – 595 nm	Kuning	Biru
595 – 610 nm	Orange	Biru kekuningan
610 – 750 nm	Merah	Hijau kebiruan

Jadi reagen biuret yang bereaksi dengan protein menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru-violet atau ungu (lembayung) dapat diukur pada panjang gelombang 560 – 580 nm.

Agar dapat dihitung banyaknya protein pada sampel, maka perlu lebih dahulu dibuat kurva standar yang melukiskan hubungan antara konsentrasi protein dengan

absorban pada panjang gelombang terpilih, yang ditentukan dengan penentuan panjang gelombang maksimum.

B. Panjang gelombang optimum

Panjang gelombang optimum merupakan satu panjang gelombang yang diambil dari hasil pengukuran absorban dengan nilai tertinggi dari sejumlah deret panjang gelombang yang diperkirakan berdasarkan warna larutan, yang diukur pada suatu konsentrasi yang tetap. Pada penelitian ini digunakan BSA pada konsentrasi 10%. BSA (Bovin Serum Albumin) dibuat dengan cara : sebanyak 1 gram bovin ditimbang secara seksama lalu dilarutkan dalam aquades sampai 10,0 ml dalam labu ukur 10 mL, sehingga kadar larutan induk (Li) sebesar 10%.

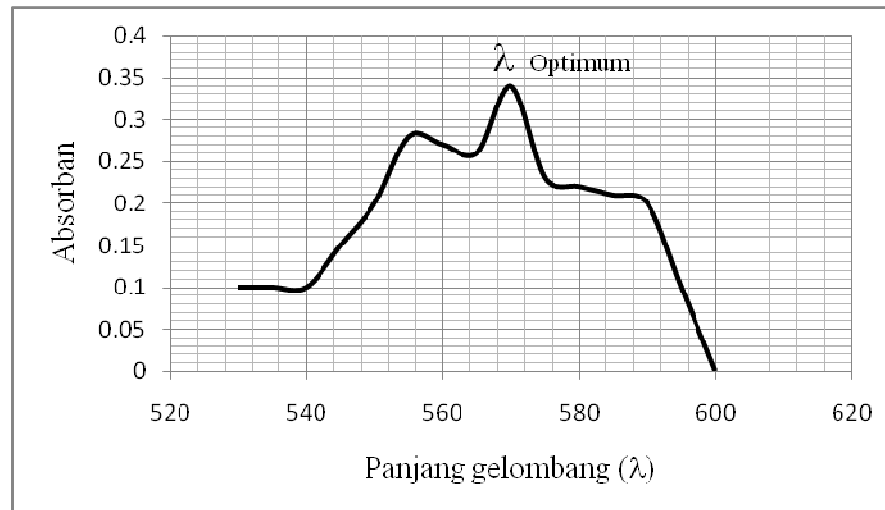
Dalam tabung reaksi dimasukkan larutan standar 900 μ l ditambahkan pereaksi biuret 800 μ l kemudian dicukupkan volume sampai 3 ml larutan dengan aquades, didiamkan selama 10 menit lalu serapan diukur pada panjang gelombang antara 530-600 nm. Panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dicatat. Dan berikut data panjang gelombang dan absorbansi masing-masing :

TABEL IV.2
DATA ABSORBAN PADA MASING-MASING PANJANG GELOMBANG.

Panjang gelombang (λ)	Absorban
530	0,1
535	0,1
540	0,1

545	0,15
550	0,2
555	0,28
560	0,27
565	0,26
570	0,34
575	0,23
580	0,22
585	0,21
590	0,2
595	0,1
600	0

Untuk lebih jelasnya juga dapat dilihat pada kurva perbandingan antara absorban dengan panjang gelombang, yaitu :



Gambar IV.2. Kurva penentuan panjang gelombang optimum

Pada kurva dapat terlihat bahwa panjang gelombang yang paling optimum antara 530-600 nm adalah 570 nm, karena nilai absorban yang lebih tinggi berarti lebih banyak panjang gelombang khas yang diserap. Sehingga untuk pengukuran konsentrasi selanjutnya dapat diukur pada panjang gelombang 570 nm.

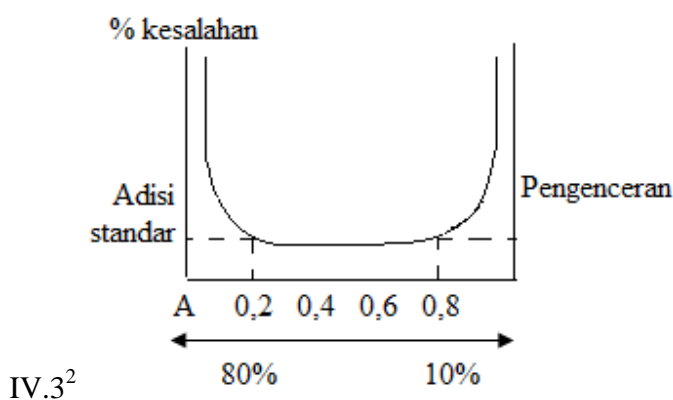
Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang optimum, yaitu :

1. Pada panjang gelombang optimum, kepekaannya maksimal karena pada panjang gelombang optimum tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
2. Disekitar panjang gelombang optimum, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.

3. Jika dilakukan pengukuran ulang, maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang optimum¹.

C. Larutan kurva standar

Dalam menggunakan spektrofotometer, untuk menghindari kesalahan pengukuran, sebaiknya bekerja pada larutan dengan konsentrasi dimana transmittannya antara 20 - 80% atau absorbansinya antara 0,2 - 0,8. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik) sebagaimana gambar



Gambar IV.3. Grafik hubungan antara transmittan/ absorbansi dengan persen kesalahan relatif.

Kurva standar/ kurva baku sebaiknya sering diperiksa ulang. Penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh : kekuatan ion yang tinggi, perubahan

¹ Ibnu Gholib Gandjar, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2007, h. 255.

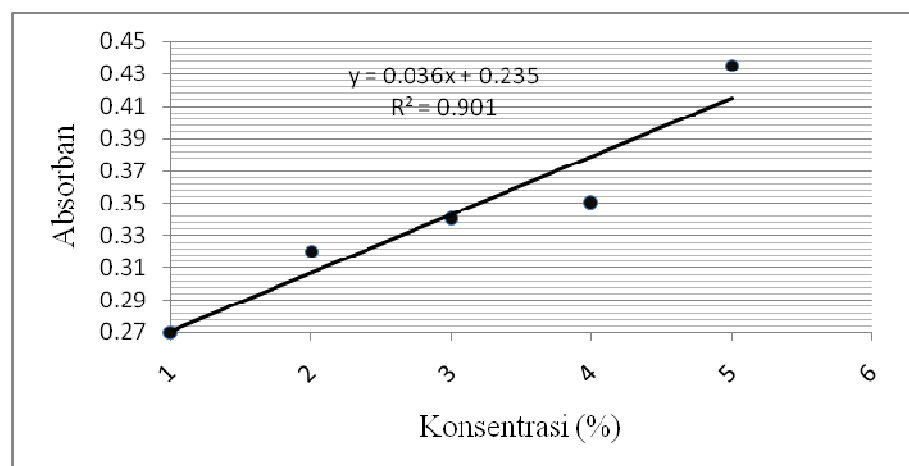
² Ibid., h. 256.

suhu, dan reaksi ikutan yang terjadi. Untuk pembuatan kurva standar pada penelitian ini dilakukan dengan 5 variasi konsentrasi, yaitu pada konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 % yang masing-masing absorbannya akan dibaca pada panjang gelombang 570 nm. Pada penelitian ini didapatkan data absorbansi pada setiap konsentrasi sebagai berikut:

TABEL IV.3
DATA NILAI ABSORBAN PADA SETIAP KONSENTRASI.

Konsentrasi (%)	Absorban
1	0,27
2	0,32
3	0,34
4	0,35
5	0,435

Sehingga terbentuk kurva standar seperti berikut:



Gambar IV.4. Kurva kalibrasi standar protein.

Pada kurva di atas dibuat perhitungan menggunakan *regresi linier* dengan rumus $Y = a + bX$,
dimana :

Y = absorbansi

X = konsentrasi

b = koefisien regresi/ *slope*

a = tetapan regresi/ *intersep*

Setelah melalui perhitungan regresi *linier* kurva standar, $Y = a + bX$, maka didapatlah $Y = 0,235 + 0,036X$. Sehingga dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi tiap sampel protein. Selanjutnya pada uji *linieritas* penentuan regresi dari standar kurva kalibrasi, diperoleh koefisien korelasi dan diketahui kondisi alat spektrophotometer yang digunakan sudah mewakili jumlah sampel.

Hasil dari kurva kalibrasi standar diperoleh nilai korelasi R sebesar 0,901, yang menunjukkan ada hubungan *linier* yang erat antara konsentrasi yang diukur dengan absorbansi yang dihasilkan.

D. Analisis kadar protein

1. Tujuan analisa protein

Protein dalam bahan biologis biasanya terdapat dalam bentuk ikatan fisis yang renggang maupun ikatan kimiawi yang lebih erat dengan karbohidrat atau lemak. Karena ikatan-ikatan ini maka terbentuk senyawa-senyawa *glikoprotein* dan *lipoprotein* yang berperan besar dalam penentuan sifat-sifat fisis aliran bahan (*rheologis*) misalnya pada sistem emulsi makanan atau adonan roti.

Dengan adanya pemanasan, protein dalam bahan makanan akan mengalami perubahan dan membentuk persenyawaan dengan bahan lain, misalnya antara asam amino hasil perubahan protein dengan gula-gula reduksi yang membentuk senyawa

rasa dan aroma makanan. Protein yang belum diolah tidak memiliki aroma dan rasa yang enak.

Dengan demikian perlakuan pemanasan dalam bahan makanan memang perlu dilakukan untuk mempersiapkan bahan sehingga sesuai dengan selera konsumen. Namun demikian pemanasan yang berlebihan atau perlakuan lain mungkin akan merusak protein bila dinilai dari sudut gizinya. Dan perlakuan yang tepat juga dapat meningkatkan kadar protein.

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan analisa protein dalam tape ketan putih adalah :

- a. Mengetahui jumlah kadar atau kandungan protein dalam bahan tape ketan putih.
- b. Menentukan tingkat kualitas protein dipandang dari sudut gizi
- c. Menelaah protein sebagai salah satu bahan kimia misalnya secara biokimiawi, fisiologis, rheologis, ensimatis, dan telaah lain yang lebih mendasar.

2. Analisis kadar protein pada tape

Apabila absorban pada sampel berada diatas 0,8 maka dilakukan pengenceran, dan apabila absorban berada dibawah 0,2 maka dilakukan adisi standart atau menambah konsentrasi pada larutan standar yaitu dengan cara menambahkan sejumlah tertentu larutan standar kedalam sampel. Dan sebaiknya absorban yang diukur pada sampel berada disekitar absorban pada konsentrasi dalam larutan standar

yang telah diketahui. Oleh karena itu maka konsentrasi seri larutan standar harus berada pada kisaran konsentrasi yang akan ditentukan, lebih encer dan lebih pekat dari konsentrasi yang diperkirakan pada sampel.

Pada penelitian ini dilakukan dengan 2 perlakuan. Perlakuan pertama pembuatan tape ketan tanpa penambahan sari buah nenas yang digunakan sebagai kontrol (P_0), perlakuan kedua dengan penambahan sari buah nenas yang dilakukan dengan 2 variasi konsentrasi yaitu 25 mL sari nenas (P_1) dan penambahan 50 mL sari buah nenas (P_2). Untuk penentuan kadar protein semuanya dilakukan secara tripel dengan perlakuan yang sama.

Penentuan kadar protein pada sampel, pembuatan kurva standar, dan penentuan panjang gelombang optimum, semuanya ditambahkan reagen biuret dengan jumlah tertentu agar terbentuk senyawa kompleks yang berwarna, sehingga dapat dibaca absorbannya pada spektrofotometer. Larutan protein dibuat alkalis dengan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO_4 encer, agar dapat mengikat protein yang ada dengan ion Cu^{++} . Protein yang terikat dengan ion Cu^{++} inilah yang membentuk warna biru lembayung, sehingga semakin kuat warna yang dihasilkan berarti semakin banyak protein yang terikat.

Dari penelitian yang dilakukan, maka didapatkan besar absorban pada tape ketan sebagai berikut :

TABEL IV.4
BESAR ABSORBAN PADA TAPE KETAN DENGAN PENAMBAHAN SARI
BUAH NENAS DAN TANPA PENAMBAHAN SARI BUAH NENAS.

Perlakuan (sampel tape)	Absorban		
	1	2	3
P ₀ (kontrol)	0,275	0,28	0,29
P ₁	0,35	0,34	0,36
P ₂	0,39	0,4	0,4

Setelah dihitung menggunakan *regresi linier*, maka didapatkan konsentrasi masing-masing protein tape sebagai berikut :

TABEL IV.5
KADAR PROTEIN (%) PADA TAPE KETAN DENGAN PENAMBAHAN SARI
BUAH NENAS DAN TANPA PENAMBAHAN SARI BUAH NENAS.

Perlakuan	Kadar	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
		1	2	3		
P ₀ (kontrol)	Protein (%)	1,085	1,228	1,514	3,827	1,275*
P ₁		3,228	2,942	3,514	9,684	3,228
P ₂		4,371	4,657	4,657	13,685	4,561**

Keterangan :

* = kadar protein terendah

** = kadar protein tertinggi

Dari hasil yang didapat, P₀ (kontrol) dengan rata-rata kadar protein sebesar 1,275%, P₁ dengan penambahan sari nenas 25 mL rata-rata kadar protein sebesar

3,228%, P_2 dengan penambahan sari nenas 50 mL rata-rata kadar protein sebesar 4,561%. Maka hasil yang lebih besar meningkatkan protein adalah pada penambahan sari buah nenas 50 mL. Setelah data dianalisis dengan uji *analisis varians* (anova) satu arah menunjukkan hasil sebagai berikut:

TABEL IV.6
HASIL UJI ANOVA SATU ARAH PADA KADAR PROTEIN PADA TAPE
KETAN DENGAN PENAMBAHAN SARI BUAH NENAS.

Sumber variasi	DB	JK	RK	F rasio	F tabel
BS	$(k-1) = 2$	16,386	8,193	160,64**	5,99
WS	$K(n-1) = 6$	0,311	0,051		
Jumlah	8				

Keterangan

** = Sangat berbeda nyata pada taraf signifikan 5%.

Keputusan uji analisis nyata pada taraf signifikan 5%.

$F_{\text{rasio}} > F_{\text{tabel}}$ ($160,64 > 5,99$) artinya sangat signifikan yaitu ada perbedaan sangat signifikan pada jumlah kadar protein diantara ketiga perlakuan dosis sari buah nenas yang diuji.

Hasil uji anova diperoleh nilai $F_{\text{rasio}} > F_{\text{tabel}}$ yaitu $160,64 > 5,99$ pada taraf signifikan 5%, artinya penambahan sari buah nenas sangat berpengaruh terhadap kadar protein pada tape ketan putih, yaitu penambahan sari buah nenas dapat meningkatkan kadar protein pada tape ketan putih. Semakin tinggi volume sari buah nenas yang ditambahkan maka semakin tinggi pula konsentrasi enzim bromelin. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar protein tape ketan dengan penambahan sari buah

nenas lebih tinggi dari pada kadar protein pada tape ketan tanpa penambahan sari buah nenas, berdasarkan hasil ini dapat disimpulkan bahwa bromelin berfungsi untuk mengkatalis protein dalam tape ketan.

Enzim bromelin termasuk dalam penggolongan enzim hidrolase yang menyerang ikatan peptida. Penamaan sistematiknya (CEIUB) adalah *peptida peptidohidrolase* dan nama trivialnya adalah *bromelin*, reaksinya adalah hidrolisis peptida, terutama terhadap ikatan dari asam amino basa, lesin, atau glisin³. Secara sistematik buah bromelin juga diberi kode yaitu : EC 3.4.22.33, sedangkan bagian batang bromelin diberi kode : EC 3.4.22.32⁴.

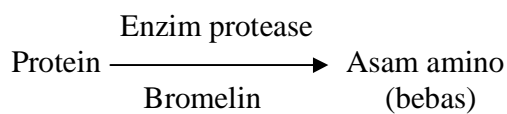
Peningkatan kadar protein pada tape ketan yang ditambahkan sari buah nenas disebabkan oleh kandungan bromelin pada nenas. Enzim bromelin merupakan suatu enzim protease yang mampu memecah protein. Enzim ini mempunyai arti penting seperti halnya papain yang dihasilkan dari tanaman pepaya. Proses kerja enzim bromelin adalah memecah protein menjadi asam amino.

Menurut Hadiwiyoto (1993) kandungan enzim bromelin pada nenas dapat mengkatalis protein. Sesuai dengan pendapat Chairunisa (1985) bahwa enzim protein merupakan enzim proteolitik yang dapat mengkatalis ikatan peptida dari suatu rantai polipeptida. Enzim bromelin dapat ditemukan pada jaringan tanaman *familia*

³ Wirahadikusumah Muhammad, *Biokimia protein, enzim, dan asam nukleat*, ITB, Bandung, 1997, h. 53-54.

⁴Answers.com, *Bromelain*, <http://www.answers.com/topic/bromelain> , diakses pada 26 Agustus 2010.

Bromeliaceae, misalnya pada nenas. Enzim bromelin dapat menjadi biokatalisator yang mempercepat reaksi-reaksi kimia. Enzim merupakan senyawa protein yang disekresikan oleh semua sel hidup dan berfungsi sebagai senyawa biokatalisator. Reaksi pemecahan protein menjadi asam amino dengan katalisator enzim protease adalah sebagai berikut :



Hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dapat terlihat pada tabel berikut:

TABEL IV.7
HASIL UJI NYATA BNT

No	Perlakuan	Rerata hasil	Jarak Nyata	
			2	3
1	P ₀ (kontrol)	1,275	-	-
2	P ₁	3,228	1,953	-
3	P ₂	4,657	1,333	3,286

Nilai t (α 0,05 dan db=6) = 5,99

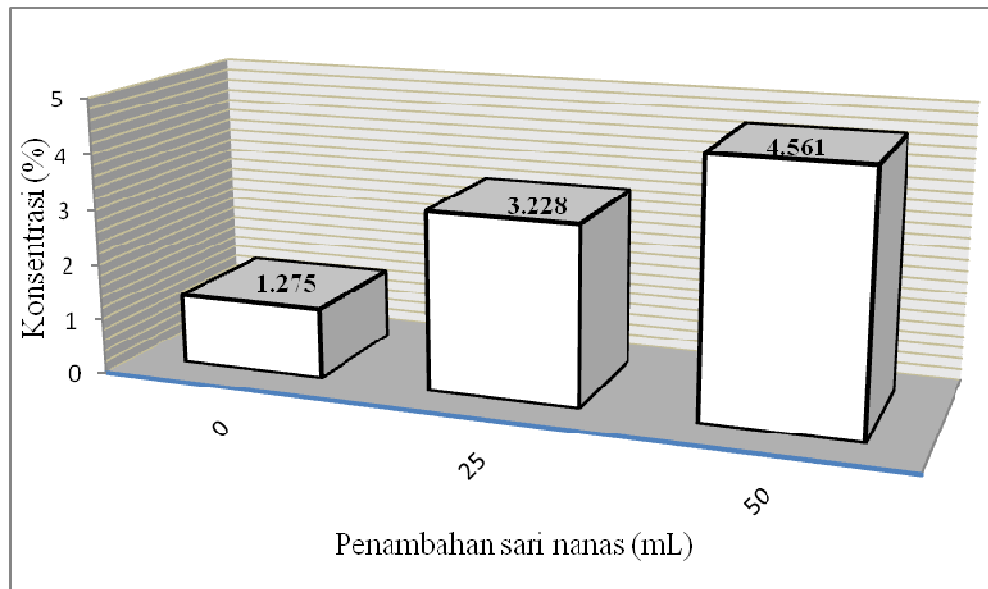
Maka $BNT_{0,05} = 0,184 \times 5,99 = 1,102$

Hasil Uji BNT menunjukkan bahwa:

- a. P₀ sangat berbeda nyata dengan P₁ ($1,953 > 1,102$) pada α 5%.
- b. P₀ sangat berbeda nyata dengan P₂ ($3,286 > 1,102$) pada α 5%.
- c. P₁ berbeda nyata dengan P₂ ($1,333 > 1,102$) pada α 5%.

Maka kesimpulan dari hasil uji BNT adalah : P₂ (perlakuan dengan penambahan sari buah nenas 50 mL) merupakan perlakuan yang memiliki kadar protein paling baik dari perlakuan lainnya. Kadar protein hasil fermentasi tape ketan yang ditambahkan sari buah nenas sebanyak 50 mL (P₂) sebesar 4,657%, pada penambahan sari buah nenas 25 mL (P₁) sebesar 3,228%. Sedangkan kadar protein terendah adalah pada kontrol (tanpa perlakuan) yaitu sebesar 1,275%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein menunjukkan kecenderungan yang semakin meningkat seiring dengan penambahan volume sari buah nenas. Hal ini disebabkan oleh semakin meningkatnya kandungan enzim bromelin dalam bahan yang berfungsi sebagai biokatalisator yang akan mempercepat reaksi pemecahan protein menjadi asam amino.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar IV.5. Kandungan kadar protein tape ketan dengan penambahan sari buah nanas.

Gambar IV.5. menunjukkan adanya perbedaan kadar protein pada masing-masing perlakuan. Dari grafik dapat kita simpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sari buah nanas maka semakin tinggi pula kadar proteinnya. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan terhadap penambahan kadar protein dengan pemberian sari buah nanas kepada pembuatan tape ketan. Hasil tersebut ternyata serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Neltje N. Palinggi, tentang Pengaruh penambahan enzim protease dalam pakan pembesaran ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Secara umum kadar nutrisi tubuh ikan kerapu bebek

menunjukkan bahwa ikan uji untuk semua perlakuan mengalami penambahan kadar protein dan lemak dibandingkan ikan awal sebelum penambahan enzim protease⁵.

Dari hasil penelitian yang diperoleh kadar protein pada tape ketan yang menggunakan sari buah nenas lebih tinggi dibandingkan tape ketan tanpa sari buah nenas. Semakin banyak sari buah nenas yang ditambahkan maka semakin tinggi pula kadar proteinnya. Tape yang tidak ditambahkan sari buah nenas, tidak memiliki kandungan bromalin maka kandungan proteinnya pun juga lebih rendah diantara perlakuan lainnya. Dengan meningkatnya kadar protein pada tape maka akan meningkatkan pula nilai gizi pada tape, karena protein berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tubuh pada anak, perbaikan dan pergantian sel-sel jaringan tubuh yang rusak pada orang dewasa, produk enzim pencernaan dan enzim metabolisme, dan protein merupakan bagian yang terpenting pada hormon-hormon tertentu seperti tiroksin dan insulin.

Protein dalam darah mempunyai peranan fisiologis yang penting bagi tubuh, antara lain:

- a. Untuk mengatur tekanan air, dengan adanya tekanan osmose dari plasma protein
- b. Sebagai cadangan protein tubuh
- c. Untuk mengontrol perdarahan (terutama dari fibrinogen)
- d. Sebagai transpor yang penting untuk zat-zat gizi tertentu

⁵ Neltje N. Palinggi, *Pengaruh penambahan enzim protease dalam pakan pembesaran ikan kerapu bebek (Cromileptes altivelis)*, Balai Riset Perikanan Air Payau :Sulawesi Selatan.

- e. Sebagai anti bodi dari berbagai penyakit terutama gamma globulin
- f. Untuk mengatur aliran darah, dalam membantu bekerjanya jantung.⁶

Nilai atau mutu nutrisi protein yang diberikan tergantung pada kandungan asam amino essensialnya dan daya cernanya. Protein berbeda dalam kandungan proporsi relatif asam aminonya. Beberapa protein mengandung rangkaian asam amino yang lengkap dalam proporsi yang tepat, lainnya mungkin tidak mengandung rangkaian asam amino melebihi asam amino essensial.

Mutu nutrisi protein dapat ditentukan dengan dua cara, yaitu protein secara sempurna dihidrolisis dan komposisi asam aminonya. Karena hanya asam amino bebas yang dapat diserap dari usus, tidak semua kandungan asam amino dari sebagian bahan pangan yang sebenarnya tersedia secara biologis. Misalnya seperti protein nabati pada gandum dan biji-bijian lain, tidak terhidrolisis seluruhnya selama pencernaan karena bagian yang kaya akan protein pada biji-bijian dikelilingi oleh kulit ari (sekam) pelindung terbuat dari selulosa dan polisakarida lainnya yang tidak terhidrolisis oleh enzim-enzim usus. Pada penelitian tape ketan ini, protein telah dihidrolisis oleh enzim bromelin, sehingga mudah diserap oleh tubuh dan dapat dimanfaatkan lebih baik. Jadi protein tidak hanya bertambah kadar atau kandungannya, tetapi juga lebih efisien dimanfaatkan oleh tubuh.⁷

⁶ I Dewa Nyaman Supariasa, dkk., *Penilaian Status Gizi*, Buku kedokteran EGC, Jakarta, 2002, h. 153.

⁷ Albert L. Lehninger, *Dasar-dasar Biokimia Jilid III*, Erlangga, Jakarta, h. 236-238.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Penambahan sari buah nenas dengan volume 25 mL dan 50 mL berpengaruh terhadap kadar protein pada tape ketan.
2. Semakin tinggi volume sari buah nenas, semakin tinggi pula kadar protein pada tape ketan yaitu pada volume 25 mL sebesar 3,228% dan pada volume 50 mL sebesar 4,657%.

Jadi pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tape ketan dengan penambahan sari buah nenas dapat meningkatkan nilai gizi pada tape ketan tersebut, sehingga makanan tersebut lebih bermanfaat digunakan sebagai makanan samping dan makanan tambahan. Selain itu juga dapat bermanfaat sebagai penambah rasa sehingga mempunyai rasa yang lebih enak, juga berprotein dan dapat menambah kebutuhan tubuh akan protein sehari-hari.

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya, penulis menyarankan tape ketan dengan penambahan sari batang atau daun nenas yang juga terdapat enzim bromelin, hal ini bertujuan untuk memanfaatkan sumber daya alam yang jarang dimanfaatkan masyarakat, selain itu penulis juga menyarankan untuk menambahkan sari buah nenas ke bahan makanan lain yang berprotein

DAFTAR KEPUSTAKAAN

Albert L. Lehninger, *Dasar-dasar Biokimia Jilid I*, Erlangga, Jakarta.

_____, *Dasar-dasar Biokimia Jilid III*, Erlangga, Jakarta.

Anonim, *Nenas Subang identitas Flora Kabupaten Subang*, [http://clearinghouse.bplhdjaba.r.go.id/index.php?option=com_content &view=article &id=166%3Anenas-subang-identitas-flora-kabupaten-subang&catid=82%3Aidentitas-flora&Itemid=199&lang=id](http://clearinghouse.bplhdjaba.r.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=166%3Anenas-subang-identitas-flora-kabupaten-subang&catid=82%3Aidentitas-flora&Itemid=199&lang=id), diakses pada 26 april 2010.

Anonim, *Perendaman Daging Paha Itik Lokal dalam Sari Buah Nenas*, <http://dewiastari.wordpress.com/2009/12/22/hello-world/>, diakses pada 13 februari 2010.

Answers.com, *Bromelain*, <http://www.answers.com/topic/bromelain> , diakses pada 26 Agustus 2010.

A. Rifai Mien, *Kamus Biologi*, Balai Pustaka, Jakarta, 2004.

Brantas Pamungkas, *Biokimia Enzim*. <http://brantas1984.wordpress.com/2009/05/02/biokimia-enzim/>, diakses pada tanggal : 26 Agustus 2010.

Chem.-Is-Try.org, *Mengapa protein begitu penting dalam hidup kita?*, 2009.

Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan RI, 1979

Farida Baliwati Yayuk, dkk., *Pengantar Pangan dan Gizi*, Penebar Swadaya, Jakarta, 2006.

Fessenden & fessenden, *Kimia Organik jilid 2*.

Haryanto Eko, dkk., *Nanas*, Penebar Swadaya, Jakarta, 1996.

Ibnu Gholib Gandjar, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2007.

Indro, H. K., *Protein*, <http://eprints.undip.ac.id/2002/3750/>., diakses pada 15 januari 2010.

- I Dewa Nyaman Supariasa, dkk, *Penilaian Status Gizi*, Buku kedokteran EGC, Jakarta, 2002.
- Kam Nio Oey, *Daftar Analisis Bahan Makanan*, Balai penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1992.
- Neltje N. Palinggi, *Pengaruh penambahan enzim protease dalam pakan pembesaran ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*)*, Balai Riset Perikanan Air Payau, Sulawesi Selatan.
- Ratno Dwi Santoso, dkk., *Analisis Regresi*, Andi Offset, Yogyakarta, 1992.
- Robert K. Murray, dkk., *Biokimia Harper*, ECG, Jakarta, 2009.
- Sadikin mohamad, *Biokimia Enzim*, Widya Medika, Jakarta, 2002.
- Sumantri, Abdul Rohman, *Analisis Makanan*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 2007.
- Sunarmi, *Pengaruh Ekstrak Daun Suji Terhadap Kadar Glukosa dan Alkohol Pada Tape Ketan Putih*. Surakarta : Skripsi FKIP Jurusan Biologi UMS, 2005.
- Tim Reality, *Kamus Terbaru Bahasa Indonesia*, Reality Publisher, Surabaya, 2008.
- Tjipto Sanjoto, *Pengujian Hipotesa*, Badan Penerbitan Universitas Tarumanegara, Jakarta, 1992.
- Widiyastuti netty, dkk., *Makanan hasil fermentasi*, BPPT PRESS, Jakarta, 2007.
- Winarno F.G., dkk., *Biofermentasi dan biosinesa protein*, Angkasa, Bandung, 1993.
- Wirahadikusumah Muhammad, *Biokimia protein, enzim, dan asam nukleat*, ITB, Bandung, 1997.
- Yasid Estein dan Linda Nursanti, *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis*, ANDI, Yogyakarta, 2006.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja1
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Analisis3
Lampiran 3. Uji Anava Satu arah peningkatan kadar protein tape ketan (<i>Oryza glutinosa auct</i>) dengan penambahan sari buah nenas (<i>Ananas comosus</i>)5
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian8

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Sulastri, anak ketiga dari pasangan Thamrin dan Sukmawati yang bertempat tinggal di Jl. Jendral Sudirman Air Molek I Indragiri Hulu Riau. Penulis dilahirkan di Air Molek, tanggal 15 Januari 1989.

Adapun riwayat pendidikan penulis yaitu :

1. Tamatan Sekolah Dasar Negeri No. 002 Air Molek I pada tahun 2000.
2. Tamatan Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama No. 003 Batu Gajah, Air Molek I pada tahun 2003.
3. Tamatan Sekolah Menengah Atas No. 001 Simpang Lirik, Air Molek pada tahun 2006.
4. Melaksanakan studi di Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Jurusan Pendidikan Kimia.

Selama kuliah aktif di :

1. Pengurus Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) dibidang intelektual periode 2006-2007.
2. Pengurus Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) dibidang minat dan bakat periode 2008-2009.
3. Asisten laboratorium pada mata kuliah kimia dasar II tahun 2007-2008.
4. Asisten laboratorium pada mata kuliah kimia dasar I tahun 2007-2008.
5. Asisten laboratorium pada mata kuliah kimia Analitik (reguler) tahun 2009-2010.
6. Asisten laboratorium pada mata kuliah kimia Analitik (non reguler) tahun 2009-2010.

DAFTAR TABEL

Tabel I.1.	Angka kebutuhan gizi rata-rata (energi & protein) yang dianjurkan (per orang per hari)	2
Tabel II.1.	Komposisi gizi tape singkong, tape ketan putih & tape ketan hitam (dalam 100 gram bahan)	22
Tabel II.2.	Kandungan zat gizi dalam 100 gram buah nenas	23
Tabel III.1.	Pembuatan kurva standar	30
Tabel III.2.	Hasil kadar protein yang terdapat pada tape ketan dengan alat spektrofotometer	33
Tabel III.3.	Hasil uji anova satu arah “Uji Kadar Protein Tape Ketan dengan Penambahan Sari Buah Nenas	35
Tabel IV.1.	Hubungan antara warna dengan panjang gelombang sinar tampak	41
Tabel IV.2.	Data absorban pada masing-masing panjang gelombang	42
Tabel IV.3.	Data nilai absorban pada setiap konsentrasi	45
Tabel IV.4.	Besar absorban pada tape ketan dengan penambahan sari buah nenas dan tanpa penambahan sari buah nenas	48
Tabel IV.5.	Kadar protein (%) pada tape ketan dengan penambahan sari buah nenas dan tanpa penambahan sari buah nenas	49
Tabel IV.6.	Hasil uji anova satu jalur pada kadar protein pada tape ketan dengan penambahan sari buah nenas	49
Tabel IV.7.	Hasil uji nyata BNT	51